QUANTITATIVE ANALYSE DER CORTICO-CORTICALEN FERNVERBINDUNGEN BEI DER MAUS

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt
von

HORST J. GREILICH

aus Crailsheim

1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536522_0025

QUANTITATIVE ANALYSE DER CORTICO-CORTICALEN FERNVERBINDUNGEN BEI DER MAUS

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt
von

HORST J. GREILICH

aus Crailsheim

1984

Tag der mündlichen Prüfung	18. Oktober 1984
Dekan	Prof. Dr. Hanns Ulrich Seitz
1. Berichterstatter	Prof. Dr. Valentin Braitenberg
2. Berichterstatter	Prof. Dr. Dezsö Varjú

Meinen Eltern

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Braitenberg dafür, daß er mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit am Max-Planck-Institut für Biologische Kybernetik durchzuführen. Seine Anregungen, Fragen und Diskussionen halfen dazu, die interessanten Aspekte des Gebiets kennenzulernen.
Von Monika Dortenmann habe ich die histologische Präparationstechnik gelernt. Dafür und auch für die Überlassung von Schnittserien zur Auswertung danke ich ihr. Claudia Martin-Schubert unterstützte mich durch viele Ratschläge über technische Dinge.
Einen sehr guten Partner für Gespräche über theoretische Fragen hatte ich vor allem in Günther Palm. Almut Schüz und Josef Rauschecker danke ich für Anregungen und ihre Informationsbereitschaft.
Ich danke Thomas Zumbroich für die Überlassung von Maus-Gehirnpräparaten zur weiteren Auswertung.

INHALT

	Einleitung	1
1.	Darstellung des Ziels der Arbeit	2
1.1.	Problemstellung	2
1.2.	Zusammenfassung der Ergebnisse	5
2.	Technische Prozedur	9
2.1.	Operation der Mäuse	9
2.2.	Histochemisches Verfahren	9
2.3.	Identifikation der Schnitte	10
2.4.	Größe der Einstichstelle	10
2.5.	Aussehen gefärbter Zellkörper	12
2.6.	Vergleichbarkeit der Präparate	14
2.7.	Aufnahme der Daten	14
2.8.	Kartierung	16
2.9.	Digitalisierung	19
3.	Ergebnisse	21
3.1.	Karten	21
3.2.	Überblick über Ergebnisse	28
4.	Besonderheiten bei den Ergebnissen	30
4.1.	Transneuronaler HRP-Transport	30
4.2.	Sonderstellung der rhinalen Fissur	32
5.	Lokale Organisation einzelner Projektionen	34
5.1.	Abbildungsfaktor der Projektionen	35
5.2.	Projektionsunschärfe	37
5.3.	Bestimmung von Projektionsunschärfe und Abbildungsfaktor	37
5.4.	Verteilung der Fleckgrößen	41
5.5.	Wahl der Injektionsgröße	44
6.	Globale Organisation der Fernverbindungen	45
6.1.	Gesamtanteil der Fernverbindungen	45
6.2.	Interindividuelle Konstanz	47
6.3.1.	Konvergenz	48
6.3.2.	Vergleich arealer Konvergenz	49
6.4.	Vergleich arealer Divergenz	51
6.5.	Ausbreitung von Erregung	53
6.6.	Kontinuität der Projektionen	58
6.7.	Längenstatistik der Axone	59
7.	Weitergehende Implikationen	62
7.1.	Teilverarbeitung in Modalitäten	62
7.2.	Statistik im Kleinen	63
7.3.	Assoziativer Speicher	65
7.4.	Lernmatrix-Schreibweise	66
8.	Schlußbemerkungen	68
	Literaturverzeichnis	69
	Lebenslauf	

Einleitung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Fragen, die die langen cortico-corticalen Verbindungen in der Gehirnrinde der Albinomaus betreffen. Sie werden von Axonen von Pyramidenzellen gebildet, die die Hirnrinde nach unten verlassen, ein Stück weit in der weißen Substanz verlaufen und an anderer Stelle wieder in den Cortex eintreten, um dort synaptische Kontakte herzustellen.

Die Arbeit hat einen anatomischen Teil, der die Gewinnung der Daten betrifft. Mit der histochemischen Methode des retrograden axonalen Transports von Meerrettichperoxidase und deren Anfärbung wurden die langen Verbindungen sichtbar gemacht.
Der zweite Aspekt der Arbeit ist die quantitative Analyse des Fernverbindungssystems. Es soll Aufschluß über die topologische Ordnung und den Umfang des langen Fasersystems gewonnen werden.

Der Text ist in acht Kapitel gegliedert. Das erste gibt eine Einführung in die Problematik und eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse. Das zweite beschreibt die technische Prozedur. Im dritten Kapitel sind Karten mit den gefundenen Verbindungen gezeigt. Der nächste Teil befaßt sich mit transneuronaler Färbung und der Sonderstellung der rhinalen Fissur für das Projektionsmuster. Das fünfte und das sechste Kapitel befassen sich mit der lokalen und der globalen Organisation der Projektionen. Im siebten Teil sind Gedanken zum funktionellen Hintergrund und zum Anschluß an die Theorie assoziativer Speicherung enthalten. Schließlich wird im letzten Teil ein Ausblick auf weiterführende Untersuchungen gegeben.

1. Darstellung des Ziels der Arbeit

1.1. Problemstellung

Viele Fähigkeiten, die der Großhirnrinde zugeschrieben werden, bestehen darin, Informationen aus einem Speicher abzurufen, bei der Sprachverarbeitung, beim Wiedererkennen komplexer visueller Eindrücke und natürlich auch beim Gedächtnis. Es ist deshalb naheliegend, die Hirnrinde als Speicher zu betrachten, dessen Abrufeigenschaften wohl in hohen Maße als assoziativ und parallel charakterisierbar sind. Man kann assoziative Speicherung in einer Lernmatrix darstellen, aus der Informationsinhalte nicht mittels eines separaten Adressierungsprozesses wiedergewonnen werden, sondern bei der in einer im Speicherprozeß gebildeten Verbindungsstruktur Aktivität an den Kontaktstellen der Einzelelemente aufsummiert und mit einem Schwellwert verglichen wird. Das führt zu einer gespeicherten Ausgabekode-Aktivität bei gegebener Eingabekode-Aktivität. Eine solches Verfahren arbeitet hochparallel. Der Vergleich der Großhirnrinde mit einem solchen Speicher liegt nahe, da man es in erster Näherung ebenfalls mit einem über wahrscheinlich variable Kontakte, die Hebb-Synapsen, im wesentlichen exzitatorisch verbundenen Netzwerk von Schwellwertelementen, den Neuronen, zu tun hat. Braitenberg und Palm haben die Idee der Lernmatrix und ähnliche Ideen verfeinert und mathematisch gefaßt, und sie haben den Anschluß an Eigenschaften der Gehirnrinde plausibel gemacht (Hebb ´49, Uttley ´55,´56a,b, Steinbuch ´61, Rosenblatt ´62, Braitenberg ´74a,´77,´78a, Palm ´80,´81a,b, Palm,Braitenberg ´79, Schüz ´79,´81a,b). Populationen von exzitatorisch verschalteten Neuronen, die untereinander stärker verbunden sind als mit Neuronen, die nicht zu dieser Gruppe gehören, werden so zu Bedeutungsträgern gespeicherter Information, den sogenannten ´cell-assemblies´.

Als assoziative Lernmatrix betrachtet, müßte der Cortex ein homogenes, möglichst vollständig und gleichartig verschaltetes Netzwerk sein. Vollständig verschaltet heißt, daß alle Elemente miteinander in Verbindung stehen können. Gleichartig heißt, daß alle Schaltelemente vom gleichen Typ sind, und die Prozesse zwischen ihnen im Prinzip gleich funktionieren sollen. Kein Ort ist im Aufbau ausgezeichnet. Der Cortex erfüllt diese Forderungen jedoch nur teilweise und annähernd. Zwar ist der Cortex, abgesehen von den Randgebieten, insofern anatomisch homogen, als sich überall die Laminierung in sechs Schichten findet, und sich sowohl die Dicke, als auch die Zelldichte nur wenig ändern. Soweit bekannt kommen überall im Cortex exzitatorische und inhibitorische Synapsen vor, und die verschiedenen Zelltypen sind nicht allzu unterschiedlich verteilt. (Palm ´82,S.73) Jedoch ist diese Homogenität nur statistisch zu sehen, es gibt keine exakte blauplanmäßige Verdrahtung im Cortex und es ist insbesondere bei weitem nicht jede Zelle mit allen anderen verbunden. Außerdem ist die Verschaltung nicht bei jedem Tier exakt gleich. Bei der Maus stehen ca. 10^7 corticalen Neuronen nur etwa 10^{10} Synapsen zur Verfügung, beim Menschen ist das Verhältnis ungefähr 10^{10} zu 10^{14}. Dennoch könnte bei entsprechender Verteilung langer corticaler Verbindungen fast jeder Punkt der Hirnrinde von einem bestimmten anderen ausgehend über wenige Zwischenschritte aktiviert werden. Da der Cortex areal gegliedert ist, liegt ohnehin die Vorstellung nahe, daß aus funktionellen Gründen nur bestimmte Teile davon stark miteinander verbunden sein müssen, außerdem sind aus anatomischen Untersuchungen der Gehirne verschiedener Tiere und des Menschen zahlreiche zusammengehörige Faserstränge bekannt. Man weiß aber wenig darüber, wie so ein Faserbündel quantitativ aufgebaut ist, das heißt, wie viele Axone in ihm verlaufen, wie dicht das Ursprungs- als auch das Zielgebiet vom Fernverbindungssystem abgerastert wird, wie Nachbarschaftbeziehungen eingehalten werden, und ob es überhaupt topologische Regelmäßigkeit für

die Wahl eines Projektionsgebietes gibt.
Man unterscheidet also in der Großhirnrinde zwischen kurzen lokalen intracorticalen Verbindungen unter benachbarten Neuronen und langen intercorticalen Verbindungen, die über Axone bewerkstelligt werden, die die graue Substanz verlassen, ein Stück weit in der weißen Substanz verlaufen, um an anderer Stelle wieder in die Hirnrinde einzutreten. Es ist bisher noch ungeklärt, ob die corticalen langen und kurzen Verbindungen zwei verschiedenen Systemen angehören, oder ob man es mit einem Kontinuum von Längen zu tun hat. Die Frage ist, ob alle Axonlängen gleich stark vertreten sind, und ob das Fernverbindungssystem direkt an den Bereich anschließt, der durch Axonkollaterale erreicht wird (Braitenberg ´78b). Kommen Fernprojektionen zu eng umgrenzten Gebieten aus ebenso scharf umschriebenen Bereichen, oder sind die Ursprungszellen eher diffus über größere Flächen verteilt (Palm ´82)? Im zweiten Fall wird räumliche Erregungsverteilung stark konzentriert, jedoch mit einem geringen Gewichtsanteil des einzelnen Ursprungsorts.

Die Untersuchung des Mäusecortex auf eine generelle Lösung einer möglichst vollständigen cortico-corticalen Verbindungsstruktur mittels des Fernsystems und dessen Quantifizierung soll hier geschehen. Die Methode des retrograden axonalen Transports von Meerrettichperoxidase (horseradishperoxidase: HRP) eröffnet Möglichkeiten, ein quantitatives Bild der cortico-corticalen Verbindungen im Cortex der Maus zu erhalten (La Vail,La Vail ´72,´74, Kristensson,Olsson 76, Mesulam 78a). Nach der histochemischen Reaktion sind diejenigen Somata dunkel gefärbt, die Axone zum Applikationsgebiet von HRP entsenden. Da das Interesse in den corticalen Fernverbindungen liegt, sind die Neurone von Bedeutung, deren Axone HRP über ´lange´ Wege retrograd durch die weiße Substanz transportiert haben. Deshalb wurde das HRP-Enzym im Bereich der Axonterminale oberhalb der weißen Fasersubstanz in alle corticalen Schich-

ten der grauen Substanz eingebracht.

Die rechte dorsale Konvexität des Mauscortex oberhalb der rhinalen Fissur wurde so bei über dreißig verschiedenen Mäusen mit Mikroliterinjektionen von HRP belegt. Die Injektionen waren so plaziert, daß die obengenannte Fläche fast vollständig abgerastert wurde.

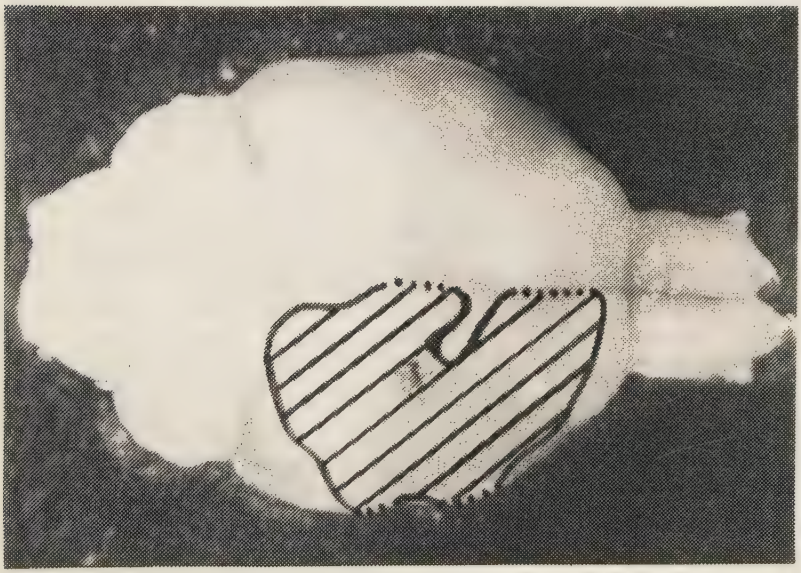


Abb.1: Mäusegehirn von dorsal, das schraffierte Gebiet der rechten Cortexhemisphäre wurde von Injektionen abgerastert.

1.2. Zusammenfassung der Ergebnisse

Um einerseits eine vernünftig große Anzahl von Zellen anzufärben, so daß eine statistische Betrachtung möglich

wird, und um andererseits den Cortex mit einer vernüftig kleinen Zahl von Injektionen überdecken zu können, wurde soviel HRP injiziert, daß das Applikationsgebiet ungefähr $1mm^2$ entsprach.

Die Auswertung der Präparate mit retrograd gefärbten Zellen erfolgte nach Übertragung der Ergebnisse in Karten. Es wurde eine Darstellung gewählt, die die Oberfläche des Mäusecortex in kartesischen Koordinaten abbildet, und die Daten von verschiedenen Individuen an anatomischen Gegebenheiten orientiert so wiedergibt, daß sie direkt vergleichbar sind. Die Karten bieten eine längentreue Abbildung in medial-lateral-Richtung entlang der senkrechten Kartenkoordinate, jedoch fällt die frontal-caudal-Richtung des Cortex nicht notwendigerweise mit der orthogonalen Kartenrichtung zusammen. Alle Nachbarschaftsverhälnisse bleiben in der Karte gewahrt, allerdings können Flächenstücke geschert sein bei einer Treue bezüglich des Flächeninhalts.

Bei allen Präparaten lagen retrograd gefärbte Zellen praktisch immer in scharf abgegrenzten Haufen beisammen, so daß eine HRP Injektion ein ´fleckiges´ Projektionsmuster hervorrief, bestehend aus fast immer mehreren solchen ´Flecken´ ipsilateral zur Einstichstelle (bei der Katze: Babb,Waters,Asanuma ´84) und in callosal projizierenden Cortexregionen oft nur einem Hauptfleck kontralateral dazu. Flecken waren meistens rundlich oder leicht elongiert und hatten in der Regel höchstens die Größe des Injektionsgebietes. Die Dichte an gefüllten Zellen in verschiedenen Ursprungsgebieten variierte zum Teil stark. Es gab solche, die nur ca. 100 gefärbte Somata pro Quadratmillimeter Cortex enthielten und andere, wo die Dichte im Fleckzentrum ungefähr um den Faktor 50 größer war.
Es wurden keine Ursprungszellen gefunden, die unterhalb einer Linie lagen, die etwa mit der Fissura rhinalis zammenfiel. Sie scheint demnach eine wichtige Grenze im Mäusecor-

tex darzustellen.

Vieles deutet auf eine sehr exakte Ordnung in der Verschaltung von verbundenen Cortexstücken hin. Es gibt offenbar wenig diffuse Streuung von Ursprungszellen. Das heißt, daß größere Projektionsgebiete sehr scharf definiert sind, und sie auch in verschiedenen Mäusen nur wenig variieren.

Nimmt man an, wie auch in dieser Arbeit bestätigt, daß verschiedene Individuen im wesentlichen die gleichen cortico-corticalen Projektionsmuster aufweisen, dann kann man durch eine Verrechnung der verschiedenen Karten gegeneinander zu weiteren interessanten Resultaten gelangen. Um diese Auswertungen quantitativ durchführen zu können, wurden die Ergebnisse der Cortexkarten digitalisiert, und die Nachverarbeitung der erheblichen Datenmengen geschah zu einem großen Teil computerunterstützt. Die bis auf wenige Randgebiete nahezu vollständige Rasterung der rechten dorsalen Konvexität des Mauscortex erlaubt summarische Aussagen, beispielsweise über die Anzahl der verschiedenen Gebiete, in die eine Cortexstelle projiziert. Man erhält so ein Maß für die Divergenz. Den Konvergenzgrad bekommt man direkt aus der Zahl verschiedener zusammenhängender Gebiete mit Ursprungszellen, die zu einem Injektionsgebiet projizieren. Man trifft Gebiete an, die sowohl einen hohen Divergenz- als auch Konvergenzgrad besitzen, wie die primäre auditorische Rinde. Sehr oft lassen sich cytoarchitektonische Areae mit Gebieten gleichartiger Divergenz oder Konvergenz zur Deckung bringen. Als weiteres wurde ermittelt, wie stark das Einzugsgebiet bzw. das Ausgangsgebiet einer bestimmten Stelle des Cortex wächst, wenn man nicht nur die direkten Projektionen betrachtet, sondern weitere neuronale Umschaltungen in Betracht zieht, und man so das von Projektionen erfaßte Gebiet iterativ ausdehnt. Betrachtet man ein Gebiet von etwa der Größe einer Einstichstelle, so kann nach zwei bis

drei Umschaltungen unabhängig von der Lage des betrachteten Gebiets, dieses jeweils vom größten Teil des restlichen untersuchten Cortex erfaßt werden, bzw. jedes andere Gebiet, das überhaupt cortico-corticale Fernverbindungen erhält, davon erreicht werden. Aus der Quantität der callosalen Färbung und der Zahl der Fasern im Corpus Callosum konnte man den Prozentsatz der Zellen, die angefärbt waren, abschätzen zum Gesamtanteil derer, deren Axonterminale ins Injektionsgebiet reichen mußten. Unter Berücksichtigung dieser Färbequalität konnte die Zahl der Pyramidenzellen, die zum Fernsystem beitragen, auf etwa 20% geschätzt werden.

2. Technische Prozedur

2.1. Operation der Mäuse

Die Mäuse wurden mit Nembutal narkotisiert. Am so völlig ruhiggestellten Tier wurde mittels eines Mikromanipulators die konisch angespitzte Injektionsnadel einer Mikroliterspritze etwa 300 µm tief in den Cortex geführt. Es wurden 0.25 µl 30 %ige Meerrettich-Peroxidase in drei bis sechs Schüben über einen Zeitraum von etwa 50 Minuten injiziert. Die Mäuse überlebten 22 bis 24 Stunden nach der Injektion. Dieser Zeitraum hatte sich in Vorversuchen als günstig erwiesen. Überlebenszeiten von mehr als 35 Stunden führten offenbar zu einem Abbau des HRP-Enzyms, während man bei weniger als 12 bis 15 Stunden nicht sicher sein kann, ob auch entfernte Cortexstellen schon retrograd erreicht worden sind. (Halperin,La Vail ´75, Jones ´75, Dunker,Harris,Jenkins ´76)

2.2. Histochemisches Verfahren

Die Mäuse wurden zunächst mit heparinisierter Kochsalzlösung und danach mit einem Fixativ, das Paraformaldehyd (1%) und Glutaraldehyd (1,25%) in 0,1M Phosphat-Puffer (pH 7,3) enthielt, durch das Herz perfundiert. Nach der Entnahme der Gehirne wurden diese etwa eine Stunde lang in derselben Lösung nachfixiert. Danach wurden sie etwa 12 Stunden lang in 0,1M Phosphat-Puffer, dem 10% Saccharose zugesetzt war bei pH 7,2 belassen. Die Gehirne wurden mit einem Gefriermikrotom in 100 µm dicke Frontalschnitte geschnitten. Die anschließende Färbereaktion mit Tetramethyl-Benzidin (TMB) als Chromagen wurde nach dem Protokol von Mesulam (Mesulam ´78a,b) durchgeführt. Die Schnitte wurden mit

Neutralrot gegengefärbt und in einer aufsteigenden Alkoholreihe (Etanol 50%, 70%, 80%, 90%, 96%, 2X100%), sowie Terpineol und Xylol je zwanzig Sekunden lang entwässert. Diese Zeiten wurden sehr streng eingehalten, um zu verhindern, daß das TMB-Reaktionsprodukt zu stark wieder ausgewaschen wird, da es alkohollöslich ist (Heimer ´81). Die Schnitte wurden dunkel gelagert, um Ausbleichung zu verhindern, was zum Verlust der Sichtbarkeit schwach gefüllter Zellen führen könnte.

2.3. Identifikation der Schnitte

Jedes Cortexpräparat ergab etwa 70 bis 90 Frontalserienschnitte. Die unterschiedliche Zahl entstand vorwiegend durch ungenaue Einhaltung der Schnittdicke an verschiedenen Mikrotomen. Die Schnitte wurden anhand deutlich erkennbarer anatomischer Merkmale, z.B. des ersten Auftauchens des Hippocampus im Schnitt, denen im Atlas des Mauscortex (Sidman,Angevine,Taber Pierce ´71) zugeordnet. So wurde eine Einordnung erreicht, die einen direkten Vergleich in frontal-caudal Richtung der Schnittserien verschiedener Präparate erlaubt, unabhängig von der tatsächlichen Schnittdicke und den individuellen Größenunterschieden verschiedener Mäuse.

2.4. Größe der Einstichstelle

Der Ort der Injektion ist auch in den Frontalschnitten deutlich zu erkennen. In dem Schnitt, der durch das Zentrum der Injektion geht, ist das Cortexgewebe durch den Nadeleinstich über einen Durchmesser von ca. 0.4 bis 1 mm zerissen (je nach Präparat). Es wurden nur solche Präparate für Auswertungen verwandt, in denen die Einstichverletzung fast

die gesamte Cortexdicke durchdrang, um alle Axone, die in verschiedenen Schichten enden, zu erreichen. Da bekannt ist, daß HRP in das Gebiet um die Einstichstelle herum diffundiert, und daß dieser Diffusionshof teilweise ebenfalls färbeaktiv ist (Vanegas,Holländer,Distel ´78, Ahlsen ´81), sollte sichergestellt werden, daß auch Axone, deren Terminale in den tiefsten corticalen Schichten endeten, das Enzym aufnehemen konnten. Durch die Myelinisierung in der weißen Substanz wird die Diffusion gestoppt und so orthograder Transport in Fasern en passant vermieden.

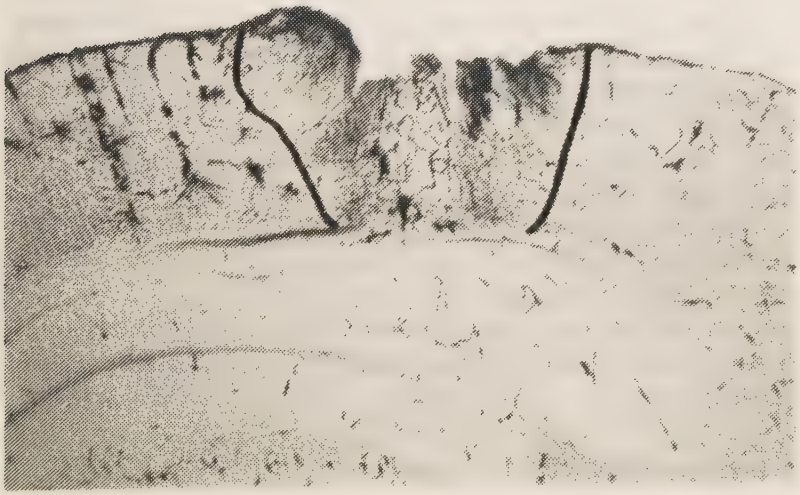


Abb.2: Einstichstelle mit Verletzung des Gewebes und färbeaktivem Diffusionshof (eingezeichnete Umrandung).

Man erhält so zwar einen etwas geringeren färbeaktiven Radius für tiefere Cortexschichten als für die oberen. Da aber sowohl cortico-corticale Fasern in derselben Hemisphäre als auch callosale hauptsächlich in oberen Cortexschichten

(I-III,IV, Hedreen ´81, Hartenstein,Innocenti ´81, Vaughan ´83, Creutzfeld, Jones,Powell ´70, Galaburda,Pandya ´83) terminieren, ist es ge-rechtfertigt, den Durchmesser der oberen Hälfte der Diffusionsglocke als Maß für den färbeaktiven Durchmesser zu nehmen. Als Hilfsmittel zur Bestimmung des Bereichs der aktiven Diffusionszone wurden callosale Projektionen betrachtet (Jacobson,Trojanowski ´74, Valentino,Jones ´82, Innocenti ´83). Für die meisten callosalen Cortexregionen gilt, daß sie flächentreu zur kontralateralen Hemisphäre projizieren. Die Größe dieses callosalen Abbildes an solchen entsprechenden Cortexstellen wurde als Maß für den Bereich des aktiven Injektionsgebiets mit Diffusionshof gewertet. Da die Diffusionszone des TMB-Reaktionsprodukts die Neutralrot-Gegenfärbung behindert, und so der Grad der Diffusion sich farblich in verschiedenen Schattierungen abhob, konnte ein relativ scharfes Farbübergangsgebiet als Grenze des färbeaktiven Gürtels in jedem Schnitt, der das Injektionsgebiet enthielt, erkannt werden (auf dem Schwarzweiß-Bild in Abbildung 2 praktisch nicht sichtbar). Damit konnte die gesamte Größe des wirksamen Applikationsbereichs des HRP-Enzyms in Flächen- und Tiefenausdehnung ausreichend genau festgestellt werden. In den meisten Fällen machte die Ausdehnung des Diffusionshofs nur einen schmalen Saum um die Einstichverletzung von etwa 30 bis 80 µm Dicke aus. Dieser Saum und der daran direkt anschließende Bereich waren oft mit lokal anterograd und retrograd gefüllten Zellen besetzt.

2.5. Aussehen gefärbter Zellkörper

Die retrograd gefärbten Zellen hatten unterschiedliches Aussehen auch innerhalb desselben Präparats. Gut gefärbte Zellkörper sind angefüllt mit dichten schwarzen Kristallen, die sie völlig ausfüllen (vgl. Foto in Abbildung 3), und

die auch noch in Teilen des basalen und weit im apikalen Dendritenbaum und im Axon sichtbar sind. Andere Zellen, die weniger dicht gefüllt sind, lassen noch dendritische Fortsätze deutlich erkennen. Bei einigen Zellen sind nur die Umrisse des Soma deutlicher zu erkennen, und das Innere ist nur äußerst schwach gefärbt. Man kann annehmen, daß diese Zellen nicht durch die Verletzung ihrer Axone gefüllt wurden, sondern daß sie das Enzym über die Axonterminale aus dem Diffusionshof um die Einstichstelle herum aufgenommen haben. Dadurch ist die Menge des aufgenommenen Enzyms geringer (Heimer '81).

Abb.3: Retrograd gefärbte Zellen

2.6. Vergleichbarkeit der Präparate

Die wichtigsten Arbeitsschritte, die sich schädlich auf das HRP-Enzym und das TMB-Reaktionsprodukt auswirken, sind die Dauer und der Kontakt der der Fixierung, der Kontakt bei der histochemischen Reaktion selber und die Dauer des Waschens und der Alkoholentwässerung (Mesulam et al. '78b,'80). Selbst bei makroskopisch identischem Arbeitsprogramm können sich hier sowohl vom Experimentator, als auch vom Tier abhängige Schwankungen einschleichen, die sich in der Sichtbarkeit von sehr schwach gefärbten Zellen auswirken. Das kann zu einem erheblichen Verlust in der Absolutzahl gefundener Zellen führen. Da der retrograde HRP-Transport ein aktiver intrazellulärer Vorgang ist, der wahrscheinlich auch von der Zellaktivität abhängt, kommen weitere versuchstierabhängige Unwägbarkeiten hinzu, die sich in der absoluten Zahl gefärbter Zellen niederschlagen. Deshalb können Zahlen gefärbter Zellen nicht zwischen verschiedenen Tierpräparaten verglichen werden. Zuverlässiger sind sicher die Verhältniszahlen innerhalb eines Präparats. Das erlaubt einen Vergleich unterschiedlich starker Einkoppelung verschiedener Ursprungsgebiete in das Einstichgebiet. Sehr sicher scheint mir die Reproduzierbarkeit der Auswerteprozedur zu sein. Einem geübten Auswerter entgehen im Mikroskop selbst schwach gefärbte Zellen nicht, wenn er gelernt hat, eine gefärbte Zelle deutlich als solche zu identifizieren. Mehrfaches Zählen derselben Stelle eines Frontalschnitts zeigte, daß die Zahl der gefundenen schwach gefärbten Zellen reproduzierbar war.

2.7. Aufnahme der Daten

Die Auswertung der histologischen Präparate erfolgte mit einem Leitz Projektionsmikroskop.

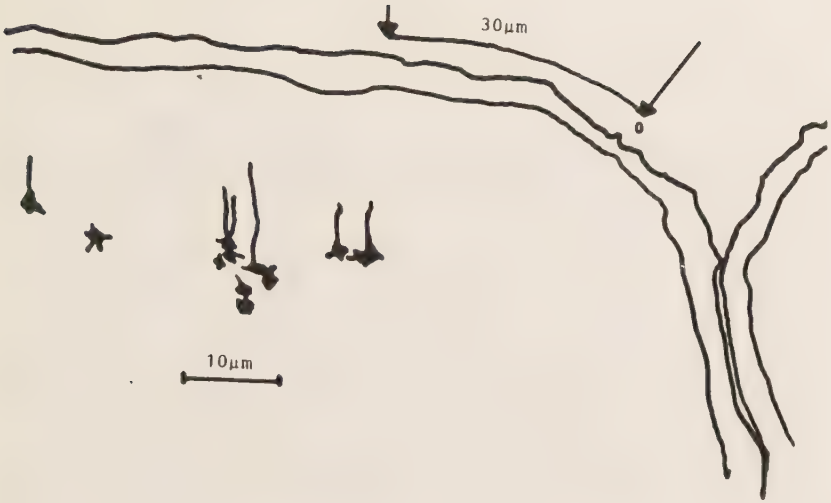


Abb.4: Zeichnung eines mit dem Mikroskop projizierten Bildes mit der Struktur an der medialen Fissur (Pfeil), die in jedem Frontalschnitt sichbar ist und als Nullreferenz zur Vermessung des Orts markierter Zellen diente.

In den unter fester und bekannter Vergößerung (200X) projizierten Bildern von Frontalschnitten wurden mit einem Kurvenmesser die Entfernungen der Einstichgebiete und der retrograd gefärbten corticalen Zellen von einer Referenzstruktur im Cortex vermessen. Trotz der das TMB-Reaktionsprodukt stabilisierenden Wirkung der Neutralrot-Gegenfärbung besteht die Gefahr der Ausbleichung der markierten Zellen unter dem starken Licht des Projektionsmikroskops. Allerdings ist die Tiefe der Neutralrotfärbung selbst am stärksten betroffen. Dennoch wurde, um für spätere Nachuntersuchungen intakte Präparate zu behalten, nur jeder zweite Frontalschnitt ausgewertet. An den dazwischenliegenden Stellen wurden die Zellzahlen interpoliert. Durch Kontrolluntersuchungen wurde quantitativ verifiziert, daß diese Interpolation zulässig ist.

2.8. Kartierung

Diese Zellen wurden in eine Karte eingetragen, auf der die Oberfläche des Mäusecortex eben abgebildet wird. Entlang der Abszisse sind die auf den Atlas bezogenen Schnittzahlen abgetragen. Dazu senkrecht in Ordinatenrichtung sind die jeweiligen Umfänge der Frontalschnitte abgetragen, bzw. die Lage gefärbter Somata, die im Cortex unterhalb eines Umfangswertes liegen. Die Nullinie wird von einer durchgängigen Kante entlang der medialen Fissur gebildet, die auf jedem Frontalschnitt sichtbar ist (siehe Abbildung 3). Innerhalb einer Schnittdicke wurde auf die frontal-caudal Verteilung gefärbter Zellen nicht geachtet, sondern sie sind zufällig verteilt eingetragen. Die Karte erhebt nicht den Anspruch, in allen Richtungen metrisch korrekt abzubilden. Die Karte ist in medial-lateraler Richtung längen- und linientreu, das heißt, daß Geraden in dieser Orientierung auf dem Cortex in der Karte wieder als Geraden und in der korrekten Längenskalierung abgebildet werden, jedoch entspricht die dazu senkrechte Kartenrichtung nicht überall exakt der rostral-caudalen Cortexrichtung. Flächenstücke werden in der Karte unter Umständen parallel zur Ordinatenrichtung geschert. Dadurch ändert sich ihre Form, nicht ihr Inhalt. Deshalb kann die Karte zur Flächeninhaltsbestimmung von Stücken auf der Cortexoberfläche benutzt werden.

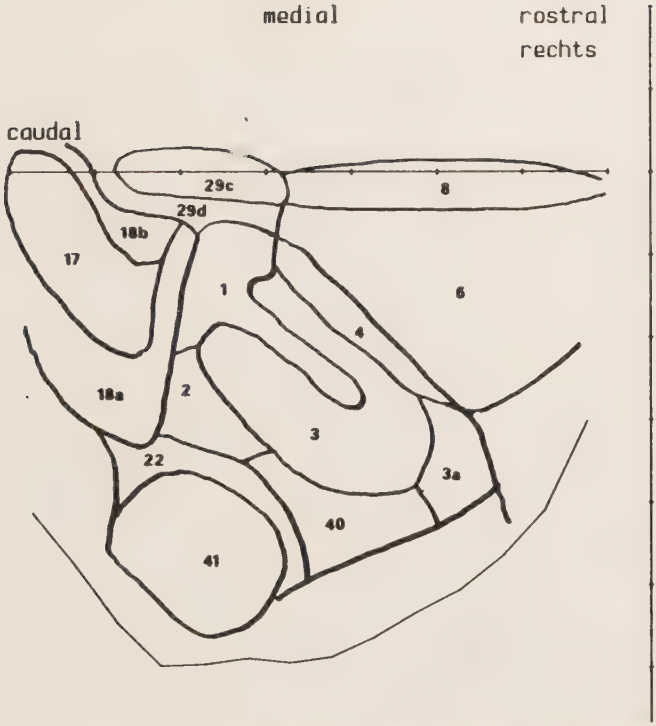


Abb.5: Darstellung der rechten Hemisphäre des Mäusecortex in der für diese Arbeit im folgenden verwendeten Kartierung. Eingetragen sind cytoarchitektonische Grenzen nach Yorke,Caviness '75.

Der Abtrag auf der Ordinate kann nicht ohne weiteres interindividuell normiert werden, da die Gehirngröße des jeweiligen Tieres nicht von vorneherein bestimmbar ist, sondern erst beim Vermessen der rhinalen Fissur beispielsweise mit dem Kurvenmesser ermittelt werden kann. Somit wäre eine nachträgliche Skalierung möglich. Darauf wurde jedoch verzichtet, da sich die Variation genau wie in rostral-caudal Richtung in engen Grenzen hielt (kleiner als 5%), was wohl vor allem daran lag, daß die Mäuse in der Regel etwa gleich alt waren, und sie insbesondere ungefähr das gleiche Gewicht hatten (nämlich um 31 Gramm).

Abb.6: Karte der Rohauswertung einer Frontalschnittserie. Das umrandete Gebiet stellt die Einstichstelle mit Diffusionshof dar, kleine Punkte bilden die Orte markierter Zellen ab, große Punkte den jeweils vermessenen Ort der rhinalen Fissur. Es is jeder zweite Schnitt ausgewertet.

2.9. Digitalisierung

Da die quantitative numerische Nachverarbeitung der Daten im Computer geschehen sollte, mußte eine Form der Datenspeicherung gefunden werden, die die interessanten Rohdaten direkt darstellt. Das sind die areale Verteilung von Zellpopulationen, deren relative Unterschiede innerhalb desselben Tieres interessant sind, und die Größen abgegrenzter Haufen von gefärbten Zellen, wie sich später herausstellte, da sich 'fleckige' Projektionsmuster ergaben. Die oben beschriebene Kartierung lieferte das Koordinatensystem. Die programmgesteuerte Digitalisierung der Daten erfolgte mit einem umgebauten, und so an den Institutsrechner anschließbaren Digitalisiertablett der Firma Kontron (MOP-Digiplan). Der Umbau zum Anschluß geschah durch die Elektronik-Werkstatt des Instituts. Innerhalb eines Frontalschnitts wurden mit einer Rasterung von 125 µm Cortexumfang in medial-lateral-Richtung die Zahl der gefärbten Zellen in diesem Intervall und ihre Kartenkoordinaten gespeichert. Somit war die Zellverteilung ausreichend genau festgehalten. Ein zweiter Datensatz für jedes Präparat enthielt Flächeninhalte von Zellhaufen, deren Ränder in der Regel sehr scharf definiert waren. Hierfür wurden die Karten so abgerastert, daß für Linien gleicher Lateralität im Abstand von 125 µm die Koordinatenpunkte mit dem Digitalisiertablett aufgenommen wurden, bei denen die Dichte gefärbter Zellen am Rand eines Flecks auf Null ging, bzw. ein deutliches Minimum hatte, das die Mitte zwischen zwei sehr nahe zusammenliegenden Flecken andeutete. Da nur jeder zweite Frontalschnitt ausgewertet wurde, mußte an jeder Seite zur Fleckbreite jeweils die Hälfte einer Schnittdicke addiert werden, um den Fehler statistisch zu korrigieren. Die mittlere Schnittdicke wurde für jedes Präparat aus der Karte ermittelt. Aus dem so erhaltenen Anfangs- und Endpunkt eines Flecks in einer Rasterzeile, der Breite der Rasterzeile von 125 µm und der Summe der Zeilensegmente, die zu einem Fleck gehörten,

konnte die Fleckfläche in der Karte ermittelt werden, die wegen der Flächeninhaltstreue der Karte in die entsprechende Cortexoberfläche umgerechnet werden konnte. (Die Fläche des ersten und letzten Zeilensegments eines Flecks wurde nur halb gerechnet, um wiederum statistisch der Tatsache Rechnung zu tragen, das der Fleck nur teilweise in die Rasterzeile hineinragte.) Das Digitalisierungsverfahren enthielt also die vollständige Information über die Lage gefärbter Zellen, ihre Anzahl, sowie über Lage und Anzahl von Zellflecken in jedem Präparat.

Die Datenverarbeitung geschah vollständig auf dem Institutsrechner vom Typ PDP-11/34 der Firma DEC, der unter dem RSX-11M Mehrbenutzer - ´timesharing´ - System betrieben wurde. Die Rechnerprogramme (auch die Zeichenprogramme für einen Hewlett Packard 7470A Plotter) wurden ausschließlich selbst entwickelt und in der Programmiersprache PASCAL geschrieben.

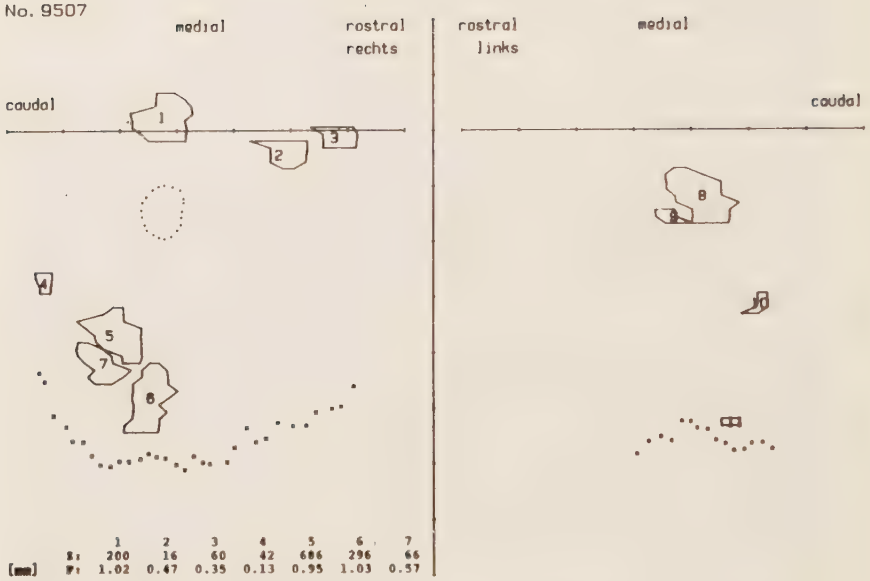
3. Ergebnisse

3.1. Karten

Auf den folgenden Seiten sind in gerasterter Form alle Karten von auswertbaren Präparationen enthalten. Nur in den Fällen, auf die später entsprechend verwiesen werden wird, ist auch die zur Einstichstelle kontralaterale Hemisphäre abgebildet. Es sind jeweils, durch kleine Punkte gekennzeichnet, die Injektionsgebiete und durch Umrandungen die dazugehörigen unterscheidbaren Flecken der gefärbten Ursprungszellen markiert. Die Fleckumrandungen wurden aus den Koordinaten der digitalisierten Kartendaten erhalten. Die Flecken sind durchgezählt, dazugehörige Parameter wie Zellpopulationen und zur Größe des Injektionsgebietes relative Flächen sind in den jeweils darunterstehenden Tabellen verzeichnet. Die größeren Punkte am unteren Rand der Karten entsprechen den Meßpunkten der rhinalen Fissur.

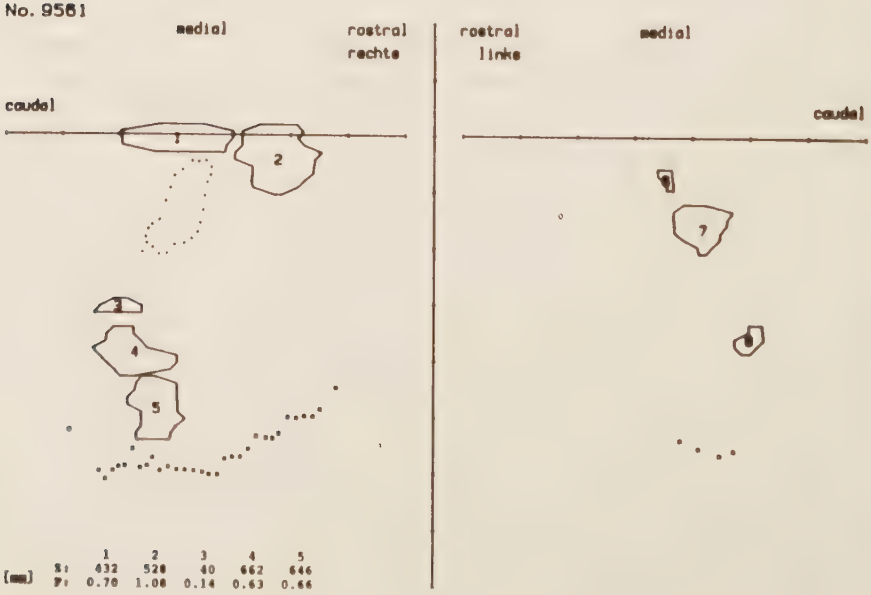
Abb.7 bis Abb.27: Karten (meistens nur rechte Hemisphäre) der Projektionsmuster aus digitalisierten Daten.

No. 9507



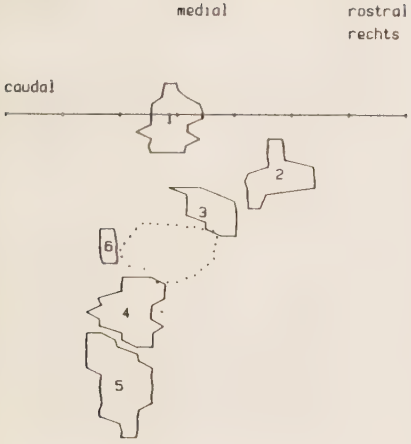
[mm]		1	2	3	4	5	6	7
	S:	200	16	60	42	686	296	66
	P:	1.02	0.47	0.35	0.13	0.95	1.03	0.57

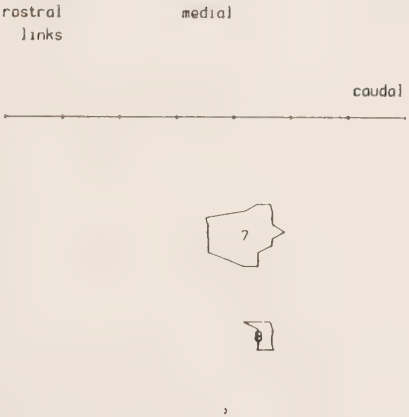
No. 9561



[mm]		1	2	3	4	5
	S:	432	528	40	662	646
	P:	0.70	1.08	0.14	0.63	0.66

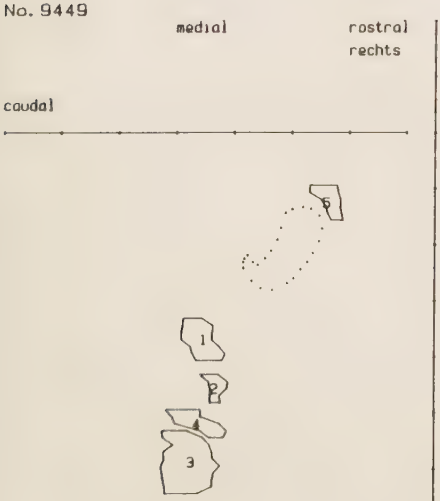
No. 9448





[mm]		1	2	3	4	5	6
	z:	192	354	84	218	698	40
	P:	0.87	0.77	0.59	1.04	1.36	0.18

No. 9449

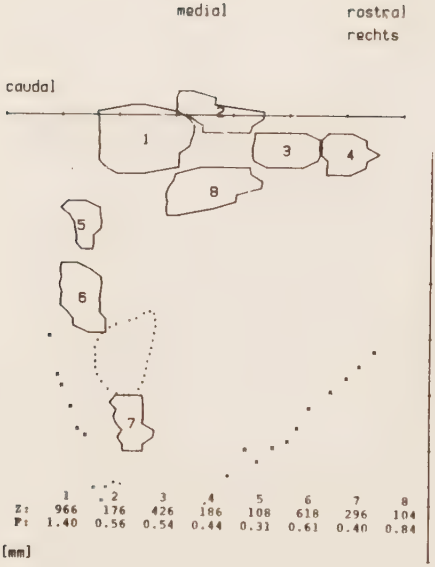


[mm]		1	2	3	4	5
	z:	60	14	386	40	24
	P:	0.32	0.11	0.74	0.22	0.18

No. 9477

[mm]		1
	z:	40
	P:	0.69

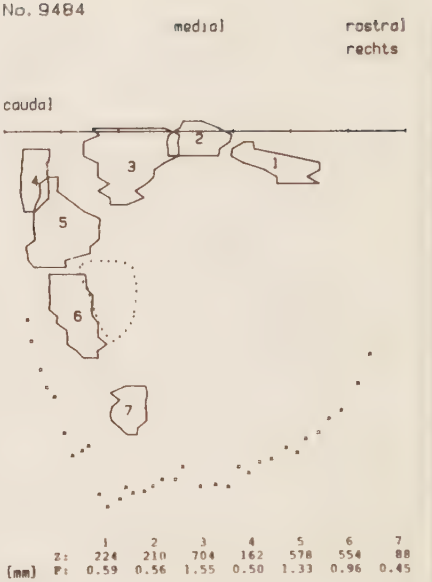
No. 9482



	1	2	3	4	5	6	7	8
z:	966	176	426	186	108	618	296	104
F:	1.40	0.56	0.54	0.44	0.31	0.61	0.40	0.84

[mm]

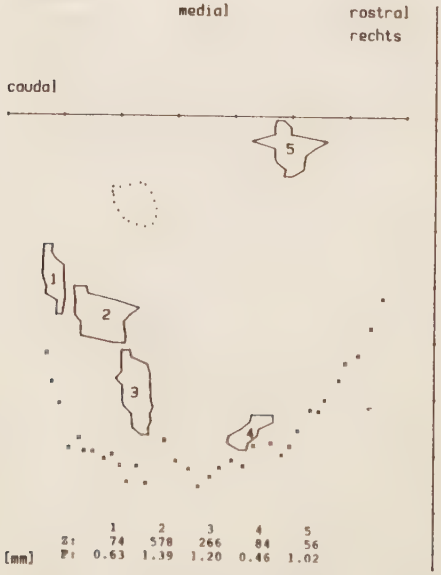
No. 9484



	1	2	3	4	5	6	7
z:	224	210	704	162	578	554	88
F:	0.59	0.56	1.55	0.50	1.33	0.96	0.45

[mm]

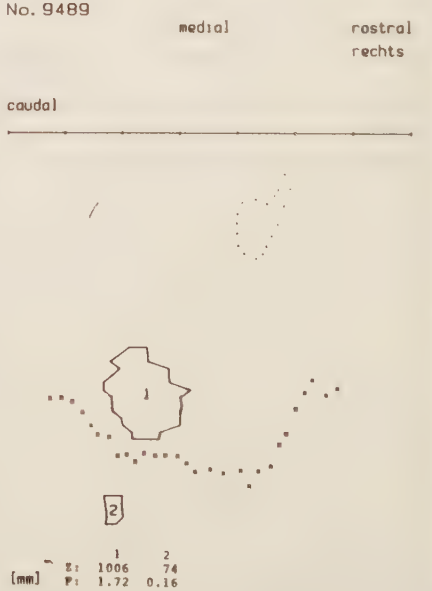
No. 9488



	1	2	3	4	5
z:	74	578	266	84	56
F:	0.63	1.39	1.20	0.46	1.02

[mm]

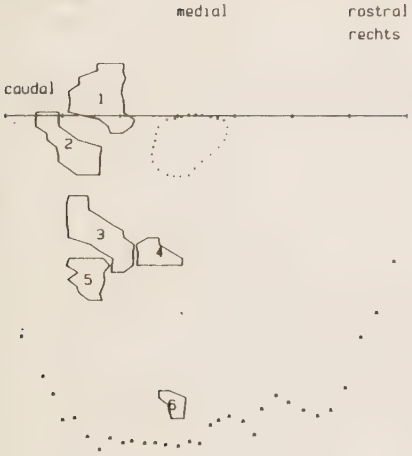
No. 9489



	1	2
z:	1006	74
F:	1.72	0.16

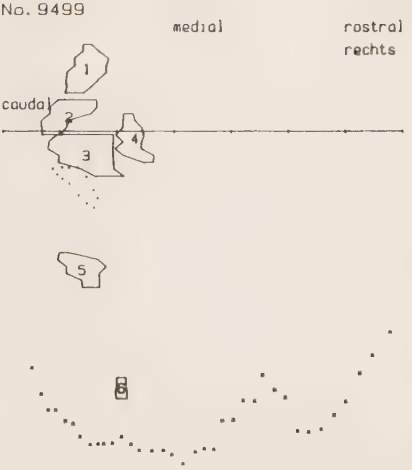
[mm]

No. 9498



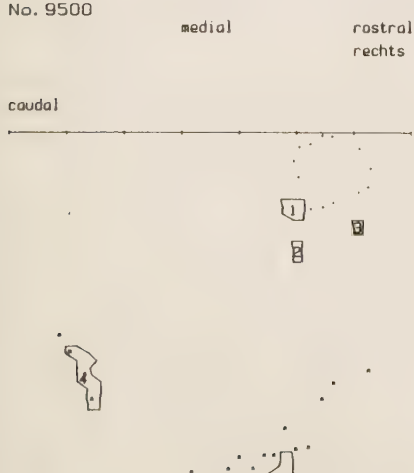
[mm]		1	2	3	4	5	6
	Z:	222	80	298	80	64	14
	F:	0.78	0.54	0.70	0.25	0.33	0.13

No. 9499



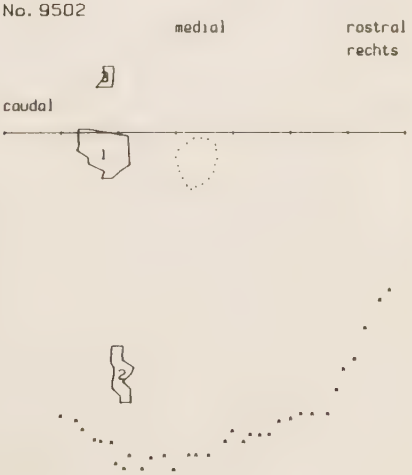
[mm]		1	2	3	4	5	6
	Z:	262	126	244	86	46	34
	F:	0.96	0.83	1.57	0.73	0.72	0.16

No. 9500



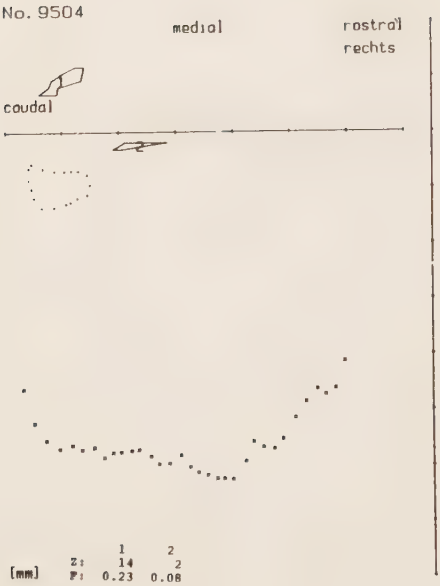
[mm		1	2	3	4	5
	Z:	16	14	6	134	62
	F:	0.10	0.05	0.03	0.24	0.30

No. 9502



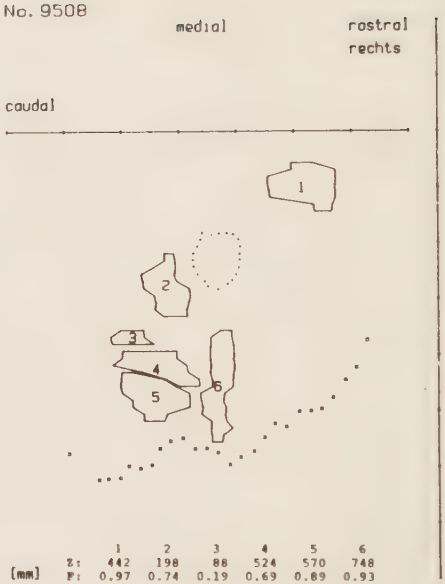
[mm]		1	2	3
	Z:	80	46	10
	F:	0.98	0.42	0.12

No. 9504



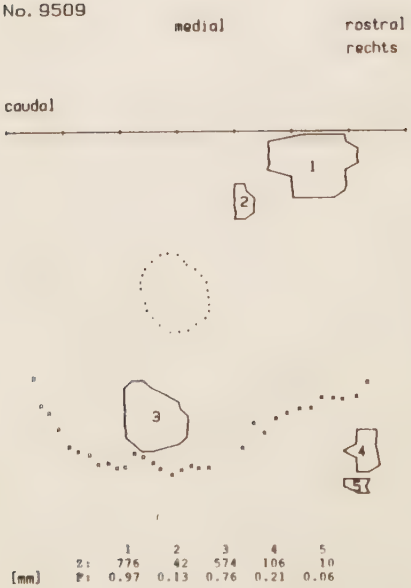
[mm]		1	2
	Z:	14	2
	F:	0.23	0.08

No. 9508



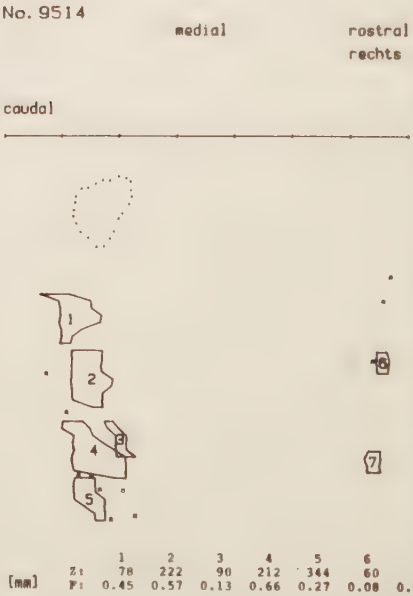
[mm]		1	2	3	4	5	6
	Z:	442	198	88	524	570	748
	F:	0.97	0.74	0.19	0.69	0.89	0.93

No. 9509



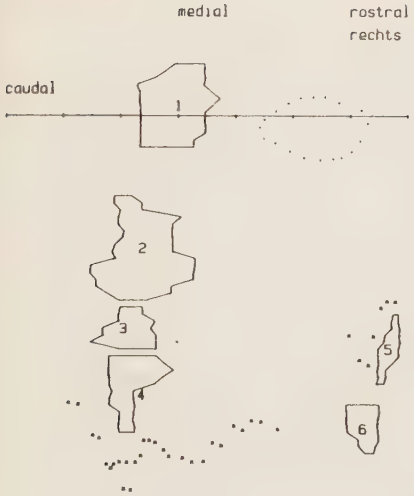
[mm]		1	2	3	4	5
	Z:	776	42	574	106	10
	F:	0.97	0.13	0.76	0.21	0.06

No. 9514



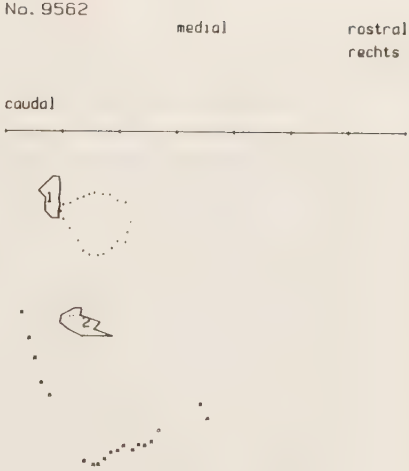
[mm]		1	2	3	4	5	6	7
	Z:	78	222	90	212	344	60	26
	F:	0.45	0.57	0.13	0.66	0.27	0.08	0.09

No. 9546



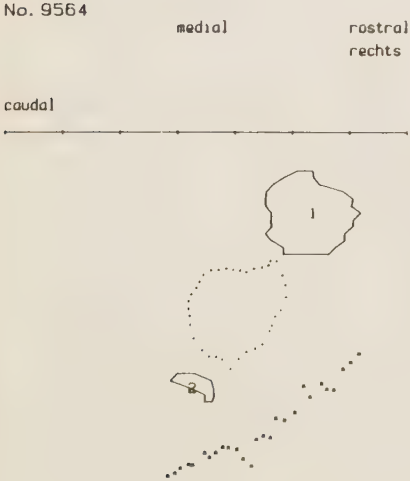
[mm]		1	2	3	4	5	6
	Z:	898	1162	192	220	226	186
	F:	1.02	1.29	0.36	0.51	0.18	0.26

No. 9562



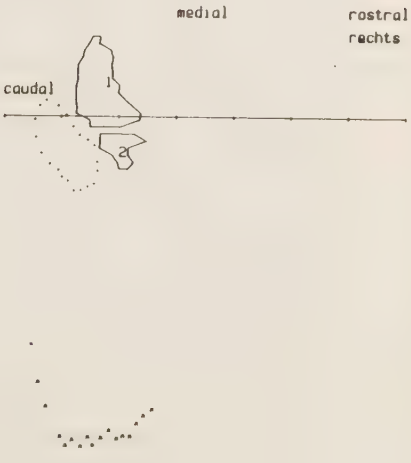
[mm]		1	2
	Z:	82	64
	F:	0.18	0.22

No. 9564



[mm]		1	2
	Z:	536	34
	F:	0.75	0.08

No. 9565



[mm]		1	2
	Z:	472	40
	F:	0.93	0.24

3.2. Überblick über Ergebnisse

Die Auswertung der Daten ergab eine ganze Reihe von Gemeinsamkeiten, die für alle Injektionen auf der dorsalen Konvexität zutrafen. Es existieren offenbar gemeinsame Regeln zur Fernverschaltung im Cortex der Maus. Im folgenden sind summarisch die wesentlichen Punkte aufgeführt, zusammen mit einer kurzen Erklärung:

- Es wurden nur wenige Ursprungszellen bei wenigen ausgewählten Injektionsstellen (siehe Karten) gefunden, die unterhalb einer Grenze lagen, die grob mit der rhinalen Fissur zusammenfällt. Demnach ist der untere phylogenetisch ältere Cortex kaum an Projektionen beteiligt, die direkt zur dorsalen Konvexität führen.
- Bei allen Injektionen ergab sich ein fleckiges Muster von abgegrenzten Gruppen retrograd gefärbter Somata. Größere dünn besetzte Gebiete ohne fleckige Organisation traten nie auf. Die größten als zusammenhängend erkennbaren Flecken hatten in der Regel bei allen Präparationen die Ausdehnung der Einstichfläche mit der färbeaktiven umgebenden Diffusionszone der Peroxidase.
- Die gefundenen Flecken hatten einen sehr scharfen Rand. Das heißt, daß das Profil der Zelldichte in einem Fleck an seinem Rand ziemlich abrupt ansteigt, zur Mitte hin nur wenig zunimmt um, dann an der gegenüberliegenden Kante schnell wieder abzufallen.
- Bei praktisch allen Tieren mit verschiedenen Injektionsstellen tauchten mehrere solcher Flecken in der ipsilateralen Hemisphäre auf, und sehr oft erschien das symmetrische callosale Bild der Einstichstelle auf der kontalateralen Seite. Das Maximum der ipsilateralen Fleckenzahl war 8. Es sind auch jene mitgezählt, die nur klein waren und relativ wenige Zellen enthielten, aber doch deutlich als eigenständige Flecken zu erkennen waren. Nur in einem Fall ergab sich nur ein deutlich abgehobener Fleck ipsilateral. Das heißt aber, daß jedes Cortexgebiet

starken Kontakt zu mehreren anderen hält, und zwar in ziemlich scharf geordneter Weise. Die aus verschiedenen Untersuchungen bekannten acallosalen Gebiete des Cortex der adulten Maus wurden bestätigt (Yorke,Caviness '75).

Folgende Unterschiede zwischen verschiedenen Projektionsgebieten fielen auf:

- Die Zahl der retrograd gefärbten Somata pro Oberflächeneinheit variierte in verschiedenen Flecken selbst bei einem Individuum recht beachtlich, von ca. 100 bis 5000 Zellen/mm^2 im Zentrum des jeweiligen Flecks.
- Es ist keine offensichtliche Regel der Projektionen zu erkennen, also beispielsweise eine Vorzugsrichtung von medial nach lateral, von frontal nach caudal etc., dennoch scheint die Organisation der Projektionen und damit auch der Faserbündel so zu sein, daß die Fasern subcortical in der weißen Substanz möglichst ohne starke Überkreuzungen verlaufen können. Das topologische Problem der Verdrahtung scheint 'einfach' gelöst zu sein.
- Es gibt corticale Gebiete, die von vielen Orten Projektionen erhalten und auch viele entsenden, wie zum Beispiel der auditorische Cortex der Maus, und es gibt Gebiete, wo das genau umgekehrt ist, zum Beispiel in primären visuellen Areae. Jedoch gibt es nur ein größeres Gebiet, das zwar einen stärker konvergenten Eingang, aber praktisch keinen cortico-corticalen Ausgang hat. Es handelt sich hierbei um den medialen präfrontalen Cortex.
- Markierte Somata sind in den Schichten II bis VI des Mauscortex zu finden, innerhalb eines Flecks jedoch meistens in nicht mehr als zwei verschiedenen. Die meisten cortico-corticalen Fernverbindungen innerhalb einer Hemisphäre entspringen den Schichten III und V.

4. Besonderheiten bei den Ergebnissen

4.1. Transneuronaler HRP-Transport

In einem Fleck waren in der Regel sowohl stark als auch schwach gefüllte Ursprungszellen zu finden. Es gibt jedoch Flecken, in denen nur wenige schwach gefüllte Zellen zu finden waren.

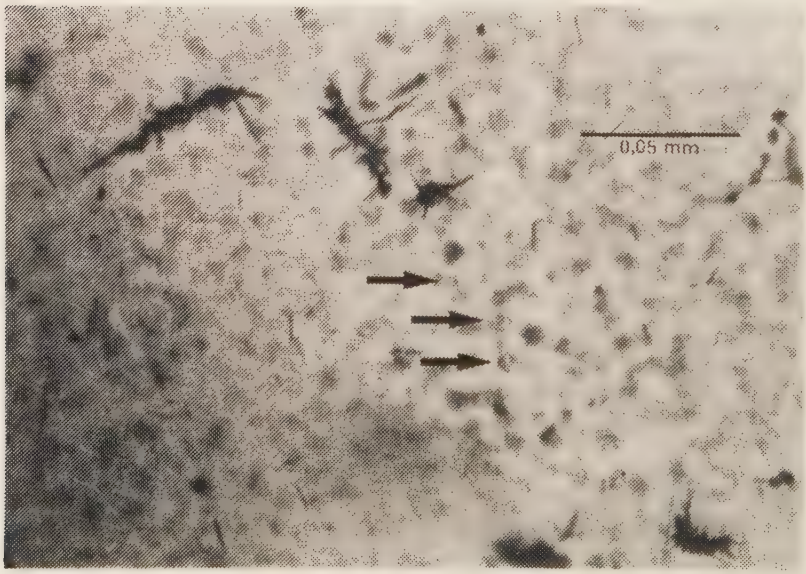


Abb.28: Schwach gefüllte Zellen (Pfeile).

Solch ein Fleck ist das erste Mal als callosales Bild eines Flecks mit hoher Dichte an gut gefüllten Somata aufgefallen (vgl. Abbildung 9, Präparat No.9448). Auch an Stellen, wo in anderen Präparaten Projektionen nachgewiesen waren, konnte in wenigen Fällen eine schwache Projektion zu einem

´dichten´ Fleck gefunden werden, ein weiterer Beweis für weitgehende interindividuelle Konstanz der langen Verbindungen. Ein solcher ´dichter´ Fleck hat oft zwischen den markierten Zellen einen Hintergrundschatten aus diffusem Reaktionsprodukt, das ganz ähnlich aussieht wie der Diffusionshof um die Einstichverletzung. Der Schatten kann möglicherweise von aus den Zellen ausgetretenem HRP herrühren, das wiederum in geringem Maße von Axonterminalen in diesem Gebiet aufgenommen werden kann. Man erhält so Hinweise auf eine transneuronale Färbung. Nur bei hoher Konzentration und Menge von HRP, wie sie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, scheinen die Bedingungen erfüllt zu sein, die zu der traansneuronalen Füllung führen. Deshalb war man bisher in der Literatur wohl relativ unsicher über das Vorhandensein dieses Prozesses, der bei Säugern nur in der Arbeit von Harrison et al. (´84) bei der Verwendung von Konjugaten von HRP mit Weizenkeimagglutinin (WGA) explizit beschrieben wurde. Transsynaptischer Transport von HRP im Nervensystem von Stubenfliegen wurde von Nässel, Berriman und Seyan (´81) erwähnt.

Da sich Flecken, die eine transneuronal gefärbte Zellpopulation hatten, immer dadurch auszeichneten, daß sie sehr geringe Zelldichte mit schwacher Füllung aufwiesen, und daß sie viel kleiner waren als die primären Flecken, von denen sie aller Wahrscheinlichkeit nach gefärbt wurden, kann man wohl ihren Beitrag in den meisten Fällen vernachlässigen. Bei anderen Betrachtungen können Fehlinterpretationen vermieden werden, wenn man diesen Fleckentypus ausklammert.

4.2. Sonderstellung der rhinalen Fissur

Die verschiedene phylogenetische Herkunft des Cortex beiderseits der rhinalen Fissur läßt es nicht allzu verwunderlich erscheinen, daß diese Fissur einen Bruch im Projektionsmuster darstellt. Es sind offenbar keine cortico-corticalen Verbindungen vom älteren zum jüngeren Cortex direkt angelegt. Diese Tatsache aber würde zusammen mit der geringen interindividuellen Varianz, die beobachtet wird, bedeuten, daß das Verbindungsmuster embryologisch vorbestimmt ist, und sich lange Axone nicht frei einen Weg bahnen können. Das Gegenteil wäre von den anatomischen und topologischen Gegebenheiten im vorliegenden Fall wohl möglich, weil im Mikroskop keine sichtbare Barriere zwischen Teilen oberhalb und unterhalb der Fissura rhinalis besteht, außer einer kleinen Einbuchtung im Bereich der Schicht I. Darunter erscheint im Bild der Zellpopulation keine scharfe Grenze.

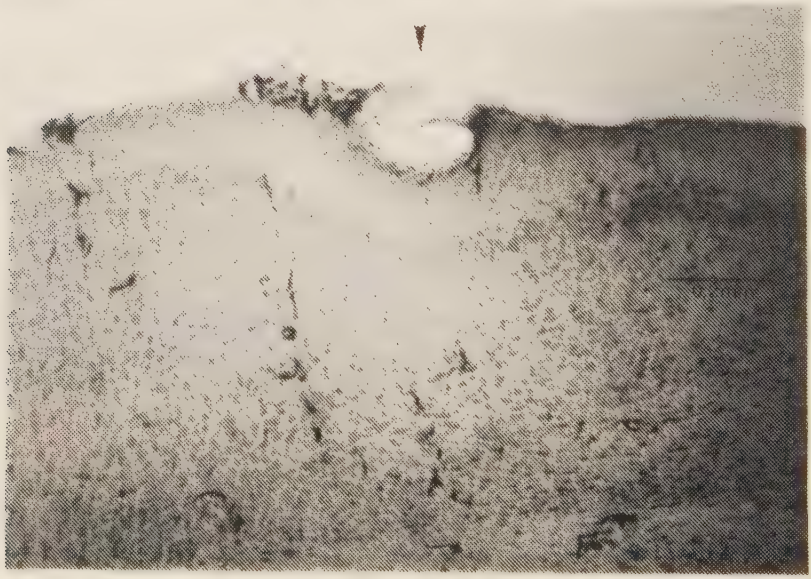


Abb.29: Neutralrot-gefärbtes Präparat aus dem Bereich der rhinalen Fissur.

Sicher ist eine lokale Interaktion zwischen Neuronen auf beiden Seiten über Axonkollaterale und Dendriten möglich, denn der Cortex scheint sich morphologisch homogen fortzusetzen. Dafür spricht auch, daß die Fissur nur eine ungefähre Grenze für Projektionen darstellt. Es können sehr wohl gefärbte Zellen wenig unterhalb ihrer Linie gefunden werden, allerdings immer nur dann, wenn an ihr und auch darüber direkt anschließend Somata gefüllt sind.

Die Tatsache, daß die rhinale Fissur für Projektionen eine anatomische Grenze darstellt, obwohl sie morphologisch von der Schichtenstruktur des Cortex durchgängig durchzogen wird, scheint mir ein sehr deutlicher Hinweis darauf zu sein, daß axonales Wachstum von sehr engen funktionell anatomischen Regeln gesteuert wird. Das heißt aber, daß zufälliges Auswachsen der Axone in alle Richtungen auch dann nicht möglich ist, wenn keine strukturellen Barrieren die Bahnung von Fasern behindern.
Weil aber die Organisation von axonalen Fernprojektionen auch in diesem Beispiel so eindeutig reglementiert ist, erscheint mir die Untersuchung der exakten Regelmäßigkeiten corticaler Projektionen nachträglich besonders gerechtfertigt.

5. Lokale Organisation einzelner Projektionen

Die 'Fleckigkeit' der Projektionsmuster ist ein guter Hinweis darauf, daß die Kodierung des Zielgebiets von Neuronen immer für einen ganzen Verband von benachbarten Zellen vorgegeben ist. Dieser Gleichschritt bedeutet große Vorteile für die Verdrahtung vom technisch konstruktiven Standpunkt aus gesehen. Eine interessante Frage ist, ob dieses Prinzip durchgehend so ausgenützt ist, daß es für corticale Funktionsmechanismen zur Notwendigkeit wird. Das heißt etwa, daß axonale Erregung immer in ganzen Bündeln von einem begrenzten Ursprungsgebiet in ein ebensolches Zielgebiet eingekoppelt werden muß, um einen wirksamen Beitrag an Aktivität einzubringen. Zu diffus verstreute Erregung hätte zu wenig Gewicht im Zielgebiet. Die Frage ist auch, wie genau die Nachbarschaftsbeziehungen von wenigen nahe beieinanderliegenden Neoronen erhalten bleiben, wenn man die Lage der Axonterminale im Zielgebiet betrachtet. Eine genaue Erhaltung der Nachbarschaftsverhältnisse kann insbesondere dann von Vorteil sein, wenn dieselben Koordinaten der Außenwelt in verschiedenen Sinnesräumen abgebildet werden müssen. Es ist mit der verwendeten Methode nicht möglich, diese Frage direkt zu beantworten, doch sollte man in der Lage sein, indirekt Schlüsse aus den vorhandenen Daten zu ziehen. Die Tatsache, daß man Flecken erhält, die derart scharf abgegrenzt sind, und deren Größe höchstens etwa die Dimension des Injektionsgebietes erreicht, führt intuitiv zur Annahme, daß es sich wirklich um ein relativ genaues Nebeneinanderherlaufen der Axone in der weißen Substanz handelt, und daß beim Wiedereintritt in den Cortex die Verzweigungen der Axonterminale dann nicht mehr allzuviel Freiheit haben, sich weiter voneinander zu entfernen.

5.1. Abbildungsfaktor der Projektionen

Innerhalb der Projektionen, die Zellen aus einem zusammengehörigen Gebiet, also einem Fleck, umfassen, gibt es im wesentlichen drei verschiedene Möglichkeiten bezüglich der Wahrung der Größenverhältnisse zwischen Ursprungs- und Zielgebiet.

A Eine flächentreue Projektion: Ein Cortexgebiet projiziert zu einem anderen von etwa derselben Größe.

B Vergrößerungsprojektion: Das Zielgebiet ist größer als das Gebiet, in dem die Ursprungszellen liegen.

C Verkleinerungsprojektion: Das Zielgebiet ist kleiner als das Ursprungsgebiet.

Wie würde nun für jeden der drei Fälle das Bild der Fernprojektionen aussehen, wenn man annähme, daß die jeweilige Abbildungsregel ausschließlich für den gesamten Cortex gelte? Die drei Fälle sollen kurz hypothetisch dikutiert werden.

Zunächst Fall (A): Gehören die Ursprungszellen einer Population ån, deren Zielgebiet das Injektionsgebiet ganz enthält, dann sollte der Fleck mit Ursprungzellen dessen Größe haben (wie es beim callosalen Bild die Regel ist). Liegt die Injektion auf der Grenze zwischen verschiedenen Projektionen, sollten entsprechend dem Teilungsverhältnis kleinere Flecken auftauchen. (vgl. dazu Abbildung 30).
Größere Flecken als das Injektionsgebiet kann es dann nicht geben (abgesehen von einem zusätzlichen Unschärfebereich der Projektionen).
Aus ebengenannten Gründen sollte es für Projektionen vom Typ (A) eine Häufung von Flecken geben, deren Größe der des Injektionsgebiets entspricht, dazu kämen die aufgeteilten

kleineren Flecken.

Für die Fälle (B) und (C) sollte die Mehrzahl der Flecken eine Größe haben, die dem jeweiligen Vergrößerungs- bzw. Verkleinerungskoeffizienten entspricht (wobei auch hier wieder kleinere auftreten können).

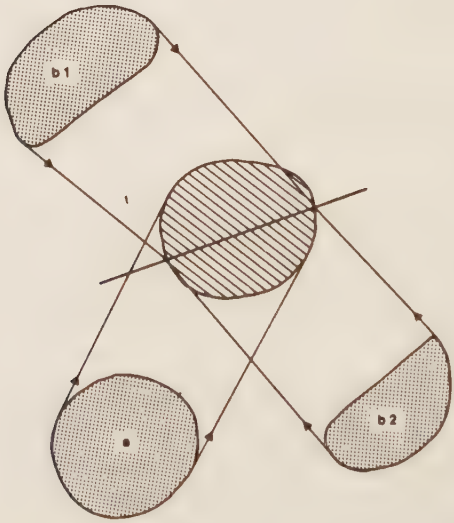


Abb.30: Darstellung eines ungeteilten und eines aufgeteilten Projektionsgebiets. Das Injektionsgebiet ist schraffiert, die Flecken mit Ursprungszellen sind gepunktet.

5.2. Projektionsunschärfe

Um den genauen Abbildungsmaßstab cortico-corticaler Projektionen zu ermitteln, ist neben der erwähnten Bestimmung der Größe des gesamten färbeaktiven Injektionsgebietes auch ein Wissen nötig über die Zielgenauigkeit, mit der Axone projizieren. Ist dieser Unschärferadius groß, können Injektionsgebiet und Fleck mit Ursprungszellen nicht direkt über ihre Fläche bezüglich des Abbildungsfaktors verglichen werden. Der Unschärferadius wirkt sich mit retrograder Färbung so aus, daß das der Ort des Soma im Ursprungsgebiet um denselben Radius unbestimmt ist. Das fällt insbesondere am Rand einer gefärbten Projektion ins Gewicht. Flecken mit gefärbten Zellkörpern müßten also durch diese Unschärfe der Projektionen größer als das strenge Projektionsgebiet erscheinen und auch am Rand eine geringere Zelldichte haben. Zwar ist das am Fleckrand tatsächlich in leichtem Maße zu beobachten, jedoch ist es schlecht möglich, Dichteprofile quer über Flecken hinweg quantitativ zu verwerten, um über diesen Unschärferadius Aussagen extrapolieren zu können. Jedoch deutet eine solche heuristische Betrachtung auf einen kleinen, wenn auch nicht verschwindenden Radius hin.

5.3. Bestimmung von Projektionsunschärfe und Abbildungsfaktor

Es gibt eine Möglichkeit, quantitativ Aufschluß über den Unschärferadius zu erhalten, und mit diesem Wissen den Abbildungsfaktor von cortico-corticalen Projektionen zu messen. Bei retrograder Färbung ist die Größe des Flecks mit markierten Zellkörpern abhängig von der Größe des Injektionsgebiets. Angenommen, eine nicht beliebig kleine Fläche im Cortex projiziere unter einem Abbildungsfaktor a in ein anderes Gebiet (in retrograder Richtung ist der Faktor 1/a). Haben die Projektionen einen Unschärferadius r in der Ziel-

genauigkeit, so können markierte Zellen um die Strecke r außerhalb des genauen Rands des Urprungsgebiets liegen (vgl. Abbildung 31). Ein kreisrundes Ursprungsgebiet erscheint um diesen Radius vergrößert. Das Randgebiet muß eine geringere Dichte markierter Zellen haben.

Bezeichnet man den Radius des Ursprungsgebiets mit U und den des injizierten Zielgebiets mit Z, so ergibt sich folgende Beziehung:

$$U = r + 1/a \cdot Z \qquad (1)$$

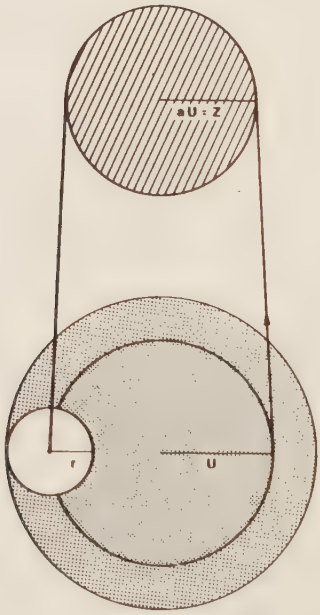


Abb.31: Veranschaulichung der Auswirkung der Projektionsunschärfe im Gebiet, in dem die Ursprungszellen liegen. Das Injektionsgebiet ist schraffiert dargestellt, das Ursprungsgebiet gepunktet.

Durch Variationen bei der Größe der Einstichverletzung schwankten die Flächen, die für die retrograde Färbung aktiv waren um etwa den Faktor 2,5 , nämlich zwischen etwa 0,45 und 1,2mm^2. Diese Flächenzahlen wurden ebenso wie die der Flecken mit einem Digitalisiertablett aufgenommen. Man kann in guter Näherung rechnerisch auf Radien runder Flecken und Injektionsgebiete gleicher Fläche reduzieren, und man erhält so Fleckradien gefärbter Zellen abhängig von den Radien aktiver Injektionsgebiete.

Da man nun in der Regel mehrere Flecken mit Somata pro Injektion findet, die Flecken aber nicht notwendigerweise ein vollständiges Ursprungsgebiet für die gesamte Injektionsstelle darstellen, muß man eine Auswahl treffen. Liegt nämlich die Einstichstelle auf einer corticalen Arealgrenze, liefern die Zellen in einem Fleck unter Umständen nur Axone in das Gebiet, das auf einer Seite der Grenze liegt. Somit ist der Fleck für einen Vergleich mit dem gesamten Injektionsgebiet zu klein. Deshalb wurde in ein Diagramm zunächst der Radius des größten Flecks eines jeden Präparats über dem Radius des Injektionsgebiets aufgetragen (Rauten in Abbildung 32). In wenigen Präparaten wurden einzelne Flecke gefunden, die sehr viel größer waren als das Injektionsgebiet. Jedoch gab es hier teilweise aufgrund von Zelldichteunterschieden Hinweise darauf, daß es sich um zwei verschiedene Flecken handelte, die aneinanderstießen. Um solche Unsicherheiten in der Bestimmung auszuschließen, wurden jeweils auch die Radien der zweitgrößten Flecken (Kreuze in Abbildung 32) in dasselbe Diagramm eingetragen. Die zweitgrößten Flecken können auch noch mit großer Wahrscheinlichkeit als ungeteilt angesehen werden.
Da die Radien der Injektionsgebiete mit dem gleichen Meßfehler behaftet sind wie die der Flecken der Ursprungsgebiete, muß eine Regression gerechnet werden, die den Unsicherheiten beider Achsen Rechnung trägt. Die Regressionskegel sind getrennt für die größten (durchgezogene Linien) und die

zweitgrößten Flecken (unterbrochene Linien) in das Diagramm eingetragen. Für größte Flecken ergibt sich für den mittleren Steigungsfaktor 1/a der Wert 1,22, für die zweitgrößten der Wert 1,29. Das entspricht den Abbildungsfaktoren a_g=0,82 und a_z=0,78. Aus der Regression ergeben sich für die Projektionsunschärfe die mittleren Radien r_g=-0,11mm und r_z=-0,26mm.

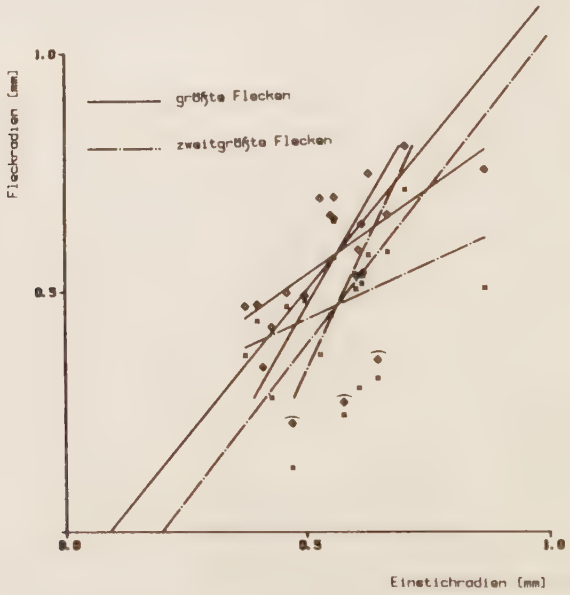


Abb.32: Abhängigkeit der Radien von Flecken mit Ursprungszellen von den Radien der Zielgebiete. Die Regression wurde nach beiden Koordinaten durchgeführt. Rauten und durchgezogene Linien beziehen sich auf die jeweils größten Flecken eines Präparats, Kreuze und unterbrochene Linien auf die zweitgrößten.

Da negative Achsenabschnitte resultieren, muß man vermuten, daß die Dichte markierter Zellen im Randbereich so stark abnimmt, daß der Rand oft zu weit innen zur Fleckmitte hin

angenommen wird. Das kann bedeuten, daß Somata, die aus dem, durch die Projektionsunschärfe bedingt, weniger dicht besetzten Rand des Flecks in den des gerade noch färbeaktiven Diffusionsgebiets projizieren, nicht immer so gut sichtbar sind, daß die genaue Grenze des Fleckrands korrekt bestimmbar wäre.

Die Aussagen, die man machen kann, sind, daß die Abbildung zumindest für alle größeren Flecken eines Präparats sehr gut flächentreu ist, bzw. daß ein leichter Verkleinerungsfaktor existiert, und daß auch die Zielgenaugkeit eines einzelnen Axons im Verband sehr hoch ist.

5.4. Verteilung der Fleckgrößen

Läßt man außer acht, daß Injektionen an Areagrenzen Projektionsgrenzen überschreiten können, läßt sich folgendes Histogramm konstruieren. Die Fläche jedes Flecks von Ursprungszellen , der (vollständig) zum Injektionsgebiet projiziert, wird dividiert durch die Fläche des zugehörigen Injektionsgebiets. Nimmt man für das Fernsystem im Cortex eine im wesentlichen flächentreue Abbildung an, hat das Histogramm der relativen Fleckgrößen nur in der Gegend von Eins von Null verschiedene Werte.
Nimmt man die angeschnittenen Projektionen hinzu, so kommen relative Fleckgrößen kleiner als eins hinzu, deren Verteilung sich wie folgt berechnet:
Der Flächeninhalt eines Kreisabschnitts (Abbildung 33a) ist:

$$A = (2\alpha - \sin(2\alpha))/2 \qquad (2)$$

mit x=r-cos(α), r=1 gilt

$$A = \left(2 \cdot \arccos(1-x) - \sin\left(2 \cdot \arccos(1-x) \right) \right)/2 \qquad (3)$$

Wird der Einheitskreis zufällig zerschnitten, dann ist x die Wahrscheinlichkeit, daß ein Kreissegment mit einer Fläche kleiner als A_o entsteht ($p(A \leq A_o)=x$). Der Verlauf eines Histogramms, in dem die Besetzungshäufigkeit für Kreissegmentflächen bei zufälliger Zerschneidung eingetragen sind, ist durch die Beziehung dx/dA wiedergegeben. Die transzendente Gleichung (2) wurde nicht nach x aufgelöst, sondern Abbildung 33b wurde numerisch durch Summation bei kleiner Schrittweite für x erhalten.

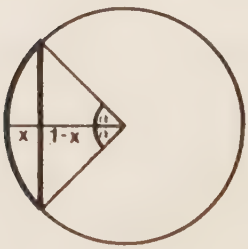


Abb.33a: Kreissegment (stark umrandet) im Einheitskreis
33b: Numerisch erhaltene Kurve dx/dA(A) zur qualitativen Darstellung des Histogramms der Kreissegmentflächen.

Das folgende Histogramm derMeßwerte gibt nun die Verteilung der zum Injektionsgebiet relativen Fleckgrößen fast aller Flecken aus allen Präparaten wieder. Lediglich Flecken mit einer Zelldichte von weniger als 150/mm² wurden nicht mit einbezogen, da ihre Ränder und somit auch die genaue Größe schwerer bestimmbar waren (oft stellen sie vermutlich transneuronal gefärbte Gebiete dar).

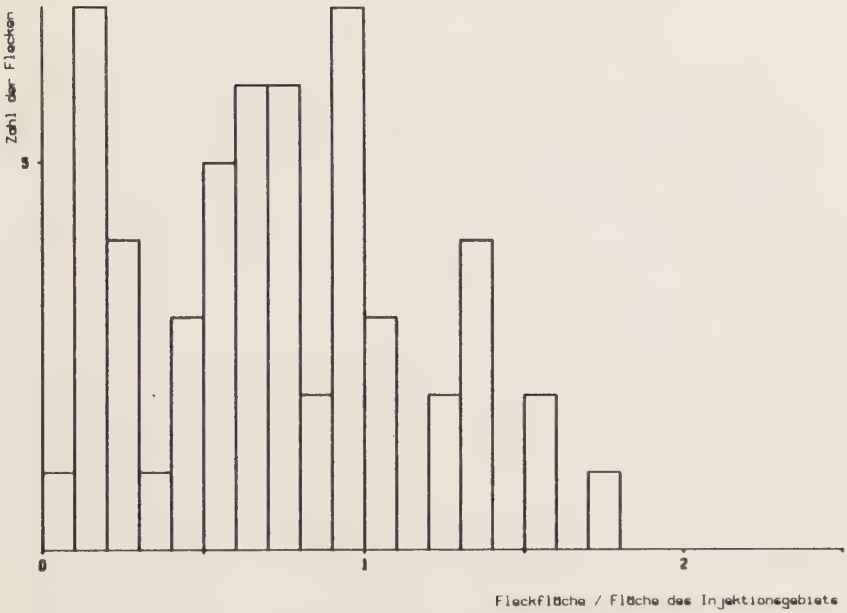


Abb.34: Histogramm aller relativen Fleckgrößen.

Das Histogramm hat ähnliches Aussehen wie eine Überlagerung der Histogrammkurve aus Abbildung 33 und einer Verteilung relativer Flächen um die Eins, was dem Abbildungsfaktor bei flächentreuer Projektion entspricht. Dennoch scheint ein Schwerpunkt auch bei sehr kleinen relativen Fleckgrößen (<0,3) zu liegen. Das könnte durch mehrfaches Zerschneiden von Projektiongebieten entstanden sein. Der Anteil der kleinen Flecken spiegelt wieder, wie häufig Projektionen angeschnitten wurden, das heißt, wie groß abgegrenzte Projektionsgebiete im Vergleich zur Größe der Injektionsgebiete waren.
Jedoch läßt sich nicht eindeutig klären, ob nicht auch durch vergrößernde cortico-corticale Abbildungen kleinere Flecken mit Ursprungszellen entstanden sind.
Es gibt auch wenige größere Flecken, die zumindest teilweise durch nicht auftrennbare Aggregation von Flecken entstanden sein könnten.

Allerdings deutet auch das Histogramm darauf hin, daß ein wesentlicher Teil cortico-corticaler Projektionen flächenerhaltend ist.

5.5. Wahl der Injektionsgröße

Nicht unwichtig sind hier einige Überlegungen zur Rechtfertigung der zunächst aus technischen Gründen gewählten Größe der Einstichgebiete. Wären die Einstichgebiete zu groß, würde man sicher an Auflösung und Aussagekraft verlieren, vor allem aus den schon angesprochenen Gründen. Es würden nämlich fast bei jeder Injektion Areagrenzen überschritten, und somit würden auch die Flecken mit retrograd gefärbten Neuronen immer ´zerschnitten´. Obiges Diagramm (Abbildung 32), in dem die größten Fleckradien über dem Radius des jeweiligen Injektionsgebiets eingetragen sind, müßte dann anders aussehen. Für kleine Injektionsgebiete müßten größere größte Fleckengrößen auftreten und für große Einstiche kleinere. Da das aber nicht so ist, sondern fast alle Werte relativ gleichmäßig nahe an der Regressionsgeraden liegen, kann man annehmen, daß die Injektionen nicht zu groß gewählt sind. Würen sie kleiner gewählt, würde man zwar keine Information verlieren, jedoch bestünde die Gefahr, bei einer geringeren Stichprobe von gefärbten Zellen wichtige Eigenschaften der Organisation von Projetionsgebieten zu übersehen, zum Beispiel wird die Festlegung der Fleckränder schwieriger, da der Unschärferadius stärker ins Gewicht fiele. Daß zu kleine Injektionsgebiete für eine statistische Auswertung Probleme in Bezug auf die Menge gefärbter Somata bieten, wird eine Abschätzung der Ausbeute der HRP - Färbung zeigen, die später noch diskutiert werden wird. Diese Abschätzung ergab, daß wahrscheinlich im Durchschnitt nur etwa 5 bis 7 Prozent der Zellen gefüllt waren, die am Fernverbindungssystem teilnahmen.

6. Globale Organisation der Fernverbindungen

Weitere Schlüsse über das corticale Projektionsmuster lassen sich herleiten, wenn man die Karten mit den eingetragenen Fernverbindungen in geeigneter Weise ineinanderprojiziert und quantitativ auswertet.

6.1. Gesamtanteil der Fernverbindungen

Da bei den verschiedenen Injektionen nicht nur Projektionsgebiete, sondern auch explizit Zellzahlen ermittelt wurden, sollte es möglich sein, den Anteil gefärbter Zellen an der Gesamtzahl der zu den jeweiligen Projektionen gehörenden Zellen zu ermitteln und so Aussagen über die Ausbeute der Färbemethode zu machen. Es ist bekannt (Rosene,Mesulam ´78, Mesulam et al. ´79,´80, Heimer ´81, Jones ´75), daß die HRP-Methode nicht alle im Applikationsbereich liegenden Axonterminale füllt, bzw. daß schwach gefüllte Somata durch die histologische Behandlung unsichtbar werden können. Man kann dies jedoch schlecht quantitativ fassen. Sicher wird der Prozentsatz deutlich markierter Zellen nicht nur, wie wir gesehen haben, vom Versuchstier und vom histochemischen Prozeß bestimmt, sondern der Anteil gefüllter Axone ist auch von der Art des Gewebes abhängig. Sicher ist der Wert anders bei corticalem Gewebe als beispielsweise bei retinalem.
Hat man einen Wert für den Grad der mittleren Färbequalität bei den für diese Untersuchung durchgeführten Injektionen, so läßt sich aus ihm und der Zahl der gefundenen retrograd gefärbten Zellen der Anteil der Zellen in der Hirnrinde abschätzen, die zu cortico-corticalen Fernverbindungen durch die weiße Substanz beitragen.

Die Abschätzung des Anteils gefärbter Zellen soll über

die gefüllten callosalen Verbindungen geschehen. Es ist sowohl die Querschnittsfläche des Corpus Callosum bei der Maus bekannt (Blinkov,Glezer ´68), als auch der mittlere Axonquerschnitt in diesem Gebilde. Daraus läßt sich die Zahl der callosalen Fasern zu etwa 800 000 in beide Richtungen berechnen. Außerdem ist die Cortexfläche, die zu callosalen Verbindungen beiträgt, bekannt (Braitenberg (in press), Yorke,Caviness ´75, Schüz ´84), nämlich, eine Präparatschrumpfung durch die histologische Behandlung eingerechnet, ca. 50 mm^2 pro Hemisphäre. Also projizieren im Mittel von jeder Seite etwa r=8 000 Zellen/mm^2 durch das Corpus Callosum in die contralaterale Hemisphäre. Für die Untersuchung der mittleren Zahl der gefärbten Zellen pro Quadratmillimeter Cortex sollen jeweils nur die Flecken herangezogen werden, die das callosale Bild des Injektionsgebietes darstellen. Somit werden vor allem Artefakte, die durch transneuronale Färbung entstehen könnten, unterbunden. Die so errechnete Dichte D erhält man aus der Summe A der betrachteten Flächen, den verschiedenen Fleckflächen A_i und den zugehörigen Zellzahlen Z_i. Der Beitrag zum Mittelwert wird jeweils mit der Fleckfläche A_i gewichtet, deshalb steht dieser Wert in der Formel als Faktor in den Summanden:

$$D = 1/A \cdot \Sigma A_i \cdot Z_i/A_i = 1/A \cdot \Sigma Z_i \qquad (4)$$

Es ergibt sich der Wert D=382 Zellen/mm^2. Danach ist die mittlere Ausbeute der HRP-Färbung etwa 5 %ig.

Unter einen Quadratmillimeter Cortex liegen bei einer mittleren Dicke von 0,75mm und einer Zelldichte von $2 \cdot 10^5$ Zellen/mm^3 (Schüz ´84) 150 000 Zellen.

Da die Zahl der Zellen, die cortico-cortical projizieren, gleich der Zahl der Axone ist, die in den Cortex wiedereintreten (abgesehen von verzweigten Axonen, deren Beitrag vernachlässigt werden soll), kann man aus der gesamten inji-

zierten Fläche und der Zahl der retrograd gefärbten Zellkörper die mittlere gemessene cortico-corticale Einstrahldichte errechnen. Wegen der relativ guten Flächentreue der Projektionen ist sie ungefähr gleich der mittleren Dichte der Zellen, die man nach der vorliegenden Untersuchung dem Fernsystem zurechnen muß. Unter Berücksichtigung der Ausbeute der HRP-Färbung erhält man hochgerechnet die Zahl T=27500 Zellen/mm^2 (die präparativ bedingte Schrumpfung des Cortex ist hier nicht eingerechnet, sie läßt die gemessene Zelldichte etwas zu hoch erscheinen). Das heißt, daß etwa jede fünfte bis sechste Cortexzelle bei der Maus Fernverbindungen macht.

6.2. Interindividuelle Konstanz

Bei den folgenden Überlegungen muß davon ausgegangen werden, daß der Cortex in Bezug auf die langen Verbindungen bei allen Mäusen gleichgestaltig organisiert sei. In der Tat fanden sich an Stellen, die fast identisch bei zwei Mäusen injiziert wurden, Fleckenmuster mit retrograd gefärbten Zellen, die im wesentlichen dieselben Ursprungsgebiete zeigten (vgl. dazu Abbildungen 7 und 8, Präparate No.9507 und No.9561). Innerhalb der Genauigkeit der Überlappung zweier Injektionsgebiete und der Qualität und damit der Ausbeute gefärbter Somata ist bei einem Mäusestamm das Vorgehen gerechtfertigt, HRP-Injektionen von zwei Mäusen so zueinander in Beziehung zu setzen, als seien sie von einem Individuum. Das gilt allerdings wiederum nur für die Ursprungsgebiete, nicht aber für absolute Zellzahlen.

6.3.1. Konvergenz

Ein Injektionsgebiet wird in der Regel von mehreren voneinander abgegrenzten Gebieten mit langen Axonen versorgt. Jedes Gebiet ist durch einen Fleck mit retrograd gefärbten Zellen repräsentiert. Ich möchte das als Konvergenz bezeichnen.
Oft ist der Beitrag an Eingangsaktivität, der aus einem der verschiedenen abgegrenzten Ursprungsgebiete kommt, gemessen an der Dichte gefärbter Neurone, größer als der aus einem anderen.

Einkoppelungen des Fernsystems bedeuten einen nicht zu vernachlässigenden Anteil von externer exzitatorischer Aktivität, die in ein Stück Cortex eingebracht wird. Die Gesamtzahl der gefundenen gefärbten Somata, die zu einer Einstichstelle von etwa 1 mm^2 projizierten, lag fast immer bei insgesamt mehreren Hundert:

Präparat 9448	:	1586 Zellen ipsilateral
Präparat 9449	:	524 Zellen ipsilateral
Präparat 9477	:	40 Zellen ipsilateral
Präparat 9482	:	2880 Zellen ipsilateral
Präparat 9484	:	2520 Zellen ipsilateral
Präparat 9488	:	1058 Zellen ipsilateral
Präparat 9489	:	1080 Zellen ipsilateral
Präparat 9498	:	758 Zellen ipsilateral
Präparat 9499	:	798 Zellen ipsilateral
Präparat 9500	:	252 Zellen ipsilateral
Präparat 9502	:	136 Zellen ipsilateral
Präparat 9504	:	16 Zellen ipsilateral
Präparat 9507	:	1366 Zellen ipsilateral
Präparat 9508	:	2570 Zellen ipsilateral
Präparat 9509	:	1508 Zellen ipsilateral
Präparat 9514	:	1032 Zellen ipsilateral
Präparat 9546	:	2884 Zellen ipsilateral
Präparat 9561	:	2308 Zellen ipsilateral
Präparat 9562	:	146 Zellen ipsilateral
Präparat 9564	:	570 Zellen ipsilateral
Präparat 9565	:	512 Zellen ipsilateral

Das heißt bei der mittleren Größe der Einstichstelle von einem Quadratmillimeter, daß die Axone im Abstand von rund

zwanzig Mikrometern in den Cortex eintreffen.

6.3.2. Vergleich arealer Konvergenz

Zunächst interessiert der Eingang in die verschiedenen corticalen Areale. Es gibt dabei zwei verschiedene Gesichtspunkte. Erstens möchte man wissen, wie hoch der Grad der Konvergenz ist, das heißt, wie viele voneinander abgegrenzte Flächen zu großen Gebieten auf der Cortexoberfläche projizieren. Diese Daten erhält man sofort, wenn man als Zielflächen die Injektionsgebiete wählt, und an jeder Einstichstelle die Zahl der Flecken einträgt, von wo Projektionen kommen. Man erhält so allerdings nur eine relativ grobe Auflösung, bedingt durch die Injektionsgebiete. Es ist sogar so, daß die eingetragene Zahl überhaupt nicht für jede Stelle des Injektionsgebietes so groß sein muß wie die Anzahl der gefundenen verschiedenen Ursprungsgebiete. Ändern sich nämlich quer über das Injektionsgebiet hinweg Projektionen, so erscheinen in der Zahl der Ursprungsgebiete sämtliche für das gesamte Injektionsgebiet zuständigen Gebiete. Da aber die vorigen besprochenen Ergebnisse darauf hinweisen, daß im Cortex im wesentlichen ein flächentreues Abbildungsprinzip vorherrscht, zeigt die folgende Karte (Abbildung 35) zusätzlich zur Zahl der voneinander verschiedenen Ursprungsgebiete für alle Injektionsgebiete an jeder Stelle die zum Injektiosgebiet relative Gesamtfläche, aus der corticale Projektionen eintreffen. Man erhält damit ein glatteres und reelleres Bild des corticalen Einzugsbereichs.

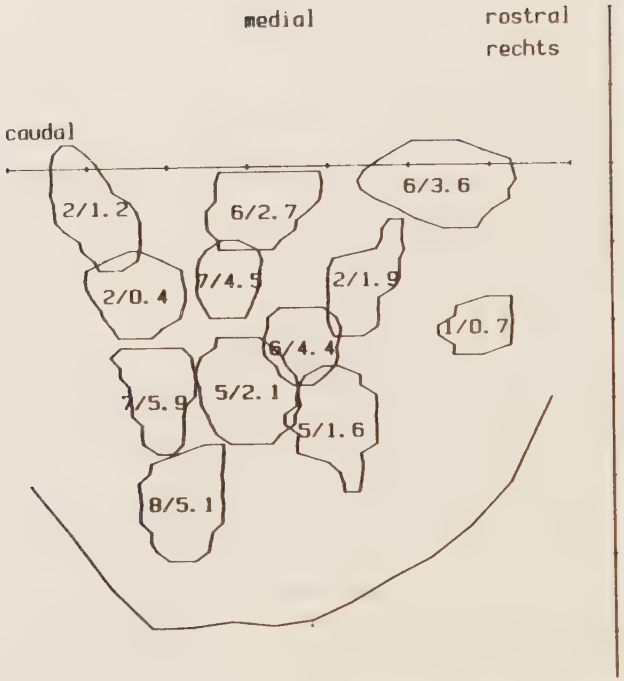


Abb.35: Karte arealer Konvergenz. Die erste Zahl in jeder Fläche gibt die Anzahl verschiedener Flecken an, aus denen Ursprungszellen dorthin projizieren, die zweite Zahl gibt den relativen Flächenanteil an, in dem Ursprungszellen liegen.

Eine große Diskrepanz zwischen beiden Zahlen spiegelt wieder, daß das Injektionsgebiet auf der Grenze zwischen verschiedenen Projektionen liegt. Die zweite Zahl ist somit wohl eher ein Maß für die mittlere Konvergenz im entsprechenden Injektionsgebiet.

Es zeigt sich, daß bestimmte Cortexgebiete, zum Beispiel der primäre auditorische Cortex, höher konvergenten

Eingang haben als andere. Hier steht offenbar die funktionelle Anforderung, nämlich viele verschiedene Qualitäten mit dem akustischen Eingang zu assoziieren, über einem allgemein gültigen Grad an Konvergenz im Cortex. Nicht vergleichbar für eine Gesamtbetrachtung des Cortex ist aus schon erwähnten Gründen die Anzahl der Neurone, die in verschiede Regionen projizieren, da die aus verschiedenen Präparaten stammenden Werte durch die individuelle Variation der Färbequalität unvorhersagbar beeinflußt sind.

6.4. Vergleich arealer Divergenz

Aus den Daten der retrograden HRP-Färbung läßt sich auch der Grad der Divergenz aus den corticalen Gebieten ermitteln. Auch hier ist eine Kombination von Karten nötig. Man kann für jede Cortexstelle ermitteln, wie oft sie bei den verschiedenen Einstichstellen auf der gesamten dorsalen rechten Hemisphäre Ursprungszellen für Projektionen beisteuerte. Die gefundene Zahl ist dann zu klein, wenn das Einstichgebiet zwei oder mehr Gebiete überdeckt, die durch ein neutrales Zwischengebiet getrennt unabhängig von der betrachteten Cortexstelle Projektionen empfangen. Bei der relativen Kleinheit der Injektionen dürfte dieser Fall jedoch äußerst selten und vernachlässigbar sein. Trifft man eine Auswahl von Injektionsgebieten, die einander nicht überlappen, so kann man davon ausgehen, daß jeder betrachtete Punkt der Cortexhemisphäre, wenn er mehrfach zu Ursprungsgebieten gehört, auch zu verschiedenen Zielgebieten projiziert. Diese Karte wird sehr genau, wenn die Bedeckung durch nichtüberlappende Injektionsgebiete möglichst vollständig ist. Aus der in Abbildung 35 gegebenen Bedeckung mit Injektionsgebieten wurde eine Rasterkarte mit proportionaler Schwärzung entsprechend dem Grad der Divergenz errechnet (Abbildung 36). Die dunkelsten Stellen projizierten

zu 6 verschiedenen Injektionsgebieten.

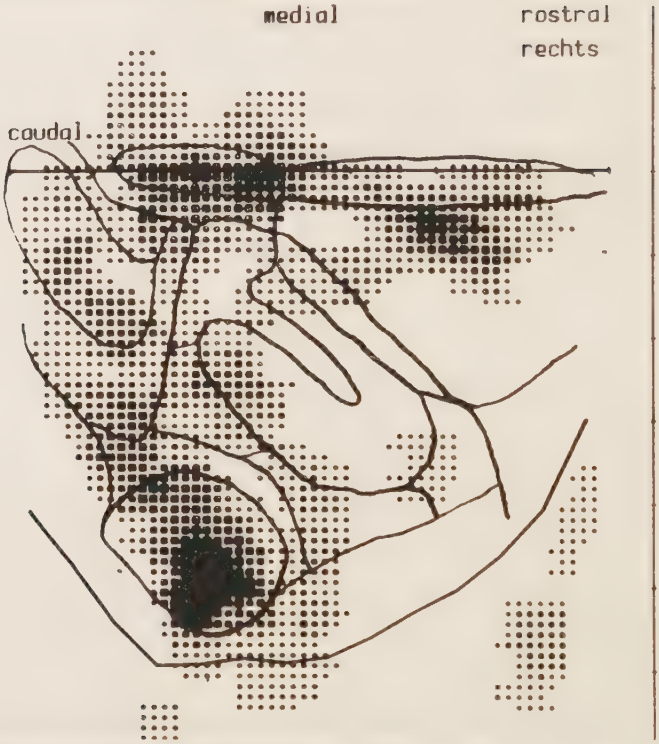


Abb.36:Karte arealer Divergenz. Starke Schwärzung entspricht hoher Divergenz. Unterlegt ist eine Karte mit eingetragener Cytoarchitektonik.

Die Zone des auditorischen Cortex ist stärker divergent als die Umgebung. Offenbar ist die akustische Modalität in beiden Richtungen, Eingang und Ausgang, sehr stark mit anderen Teilen des Mäusecortex verbunden. Besonders hier zeigt sich eine enge Korrelation mit den Grenzen der akustischen Area in der cytoarchitektonischen Karte (vgl. auch Vaughan '83).

6.5. Ausbreitung von Erregung

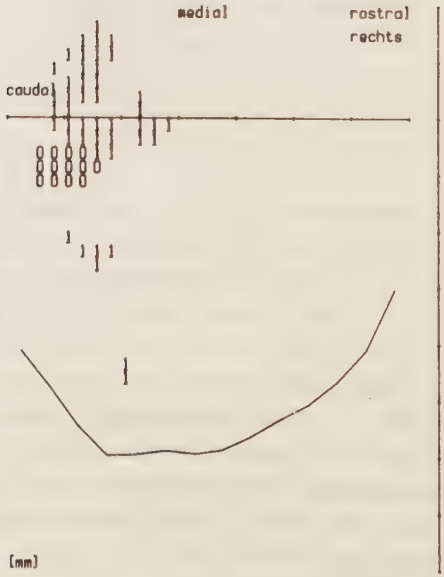
Eine weitere Information, die aus den Karten zu erhalten ist, betrifft die Zahl der Schritte, in denen neuronale Erregung von einem Cortexgebiet zu einem beliebigen anderen kommmt, oder die Anzahl der Umschaltungen, die nötig sind, um Erregung aus einem beliebigen Gebiet zur betrachteten Stelle zu übertragen.

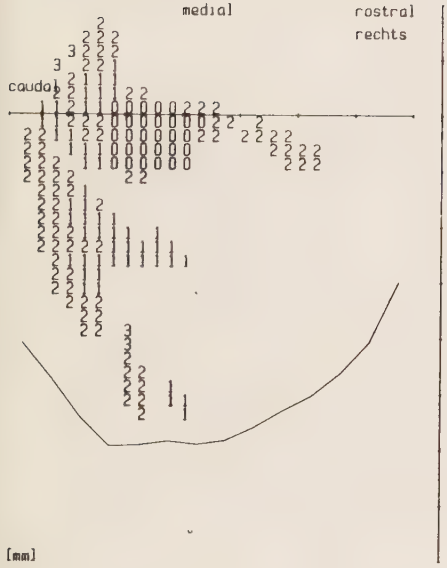
Jede Pyramidenzelle der Maus hat an ihrem Axon etwa 5000 Synapsen, über die sie überwiegend zu verschiedenen nachgeschalteten Dendriten anderer Pyramidenzellen Kontakte herstellt (Braitenberg ´78a). Die Werte wurden aus Betrachtungen der Dichte von Axon- und Dendritenbäumen gewonnen und ergaben je nach Randbedingungen für null bis drei Synapsen zwischen zwei benachbarten Pyramidenzellen nicht verschwindende Wahrscheinlichkeiten. Angenommen, eine Pyramidenzelle erreicht 2000 bis 3000 verschiedene nachgeschaltete Neurone, dann muß spätestens nach drei synaptischen Umschaltungen bei einer Gesamtzahl von 10^7 Pyramidenzellen im Cortex für einen großen Teil von Neuronen ein Erregungskreis geschlossen sein (Palm ´84).

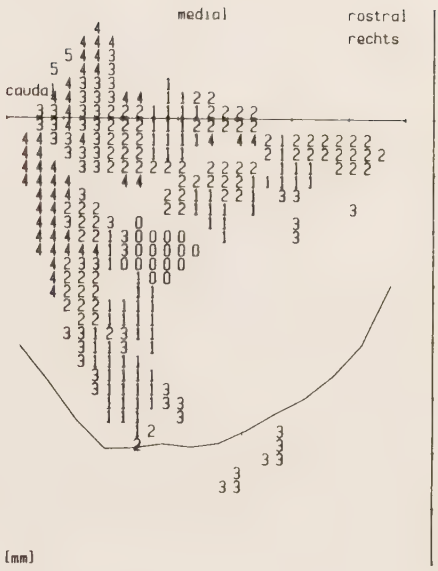
Wenn solche RÜckerregung nicht nur relativ lokal, sondern über weite Teile des Cortex laufen kann, dann sollte sich das bei der Betrachtung des Fernverbindungssystems so bemerkbar machen, daß fast jedes Gebiet in wenigen Schritten jedes andere erreichen kann, oder von jedem Fasern erhalten kann. Dies ist in der Tat für die betrachteten Gebiete des Mäusecortex gegeben. Die Analyse erfolgte durch eine computerunterstützte Rasterung der Fleckdaten. Bei der sogenannten Rückwärtsbetrachtung wird zunächst ausgehend von einem Anfangsgebiet von der Größe eines beliebigen Flecks oder eines Injektionsgebiets diejenige Fläche bestimmt, von der Axone in das Anfangsgebiet einstrahlen. Das sind die Flecken mit retrograd gefärbten Neuronen, deren Injektions-

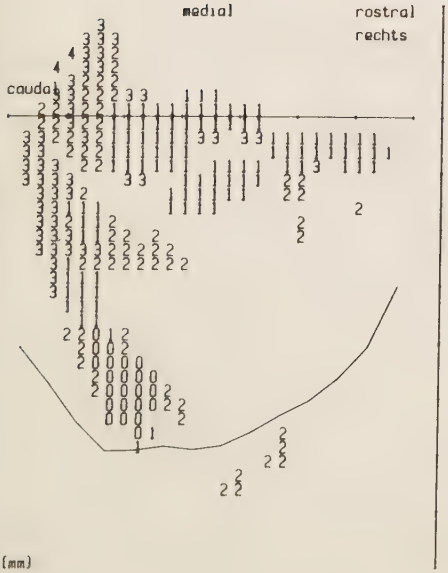
gebiet ausreichend mit dem betrachteten Gebiet überlappt (der nötige Überlappungsfaktor ist im Programm angebbar). Die so entstandene Gesamtüberdeckung aus Anfangsgebiet und dorthin projizierenden Ursprungsgebieten ergibt das Ausgangsgebiet für den nächsten Schritt. Im folgenden zeigen einige Diagramme iterierte Rückwärtsprojektionen für verschiedene Anfangsgebiete (Abbildungen 37).

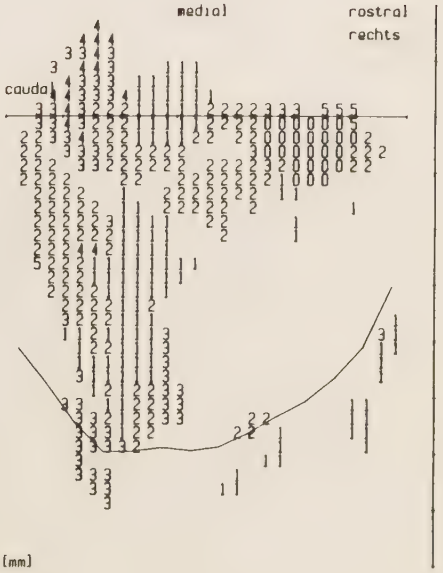
Abb.37a-e: Karten iterativer Erregungsausbreitung in retrograder Richtung. Der nötige Überdeckungsfaktor ist 0,5.




medial
rostral
rechts
caudal
[mm]

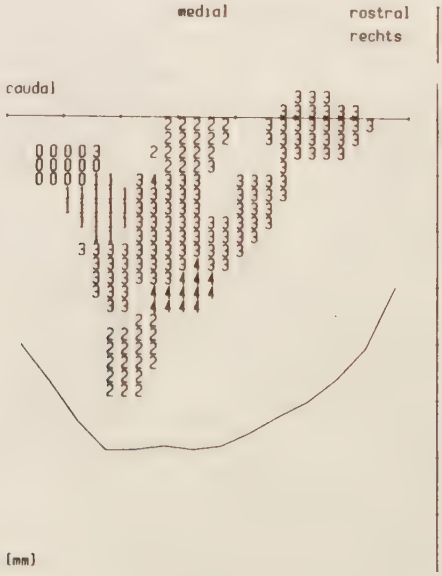

medial
rostral
rechts
caudal
[mm]

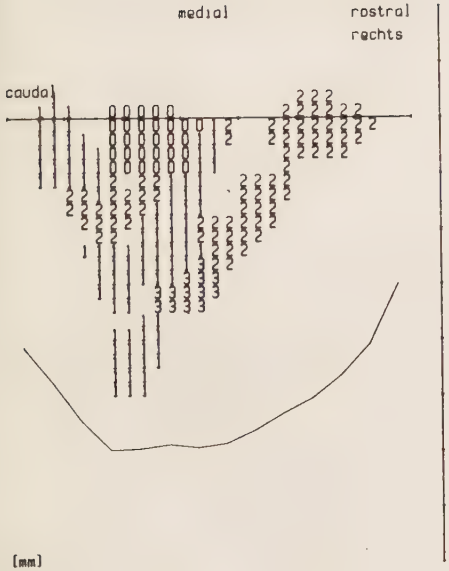

medial
rostral
rechts
caudal
[mm]

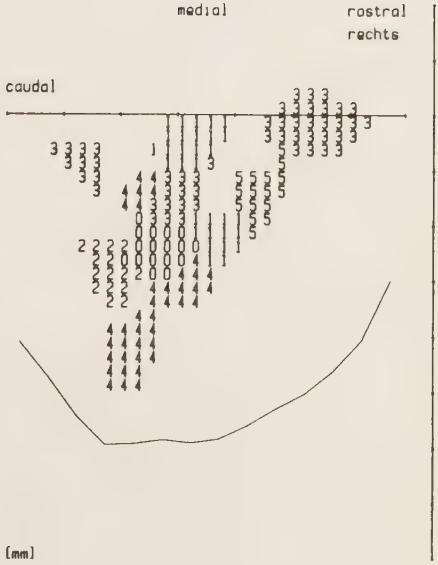

medial
rostral
rechts
caudal
[mm]

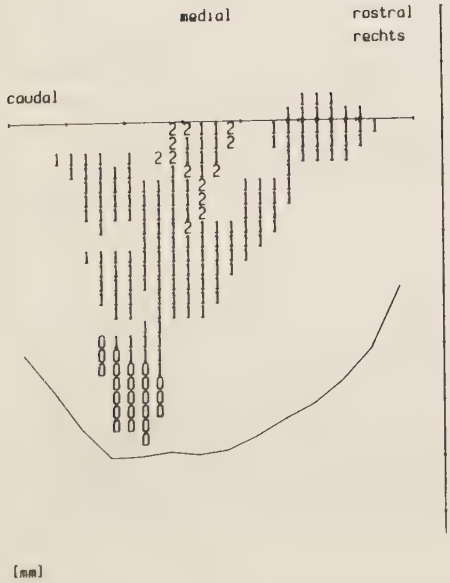
Für fast alle ausgesuchten Stellen auf der rechten Hirnrinde ergab sich, daß sie nach zwei bis drei Umschaltungen in anterograder Richtung vom größten Teil der restlichen gleichseitigen Hirnoberfläche oberhalb der rhinalen Fissur erreicht werden können. Lediglich ein frontal lateral gelegenes Gebiet oberhalb der rhinalen Fissur und einige Randgebiete liefern praktisch keinen Eingang. Ein völlig analoges Verfahren kann für eine Vorwärtsbetrachtung angewandt werden. Bei einem gewählten Anfangsgebiet wird bei ausreichender Überlappung mit einem Fleck gefärbter Zellen irgendeines der verschiedenen Präparate das jeweilige Injektionsgebiet markiert. In der Regel kann man mehrere verschiedene eintragen. Wieder wird das so markierte Gesamtgebiet als Ausgangsgebiet für den nächsten Fleck angenommen. Die folgenden Karten zeigen wiederum die Ausbreitung von Erregung nach verschiedenen Umschaltungen für unterschiedliche Anfangsgebiete (Abbildungen 38).

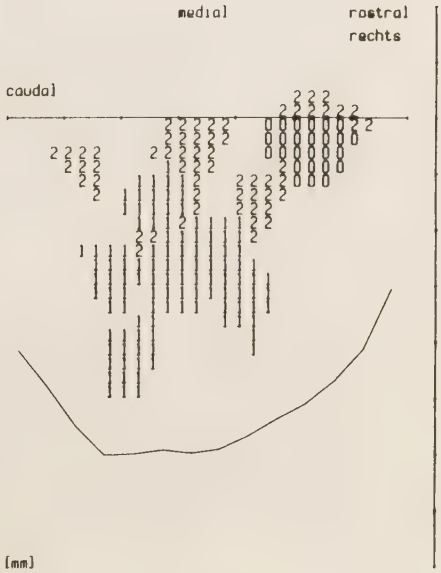
Abb.38a-e: Karten iterativer Erregungsausbreitung in anterograder Richtung. Der nötige Überdeckungsfaktor ist 0,5.




medial
rostral
rechts
caudal
[mm]


medial
rostral
rechts
caudal
[mm]


medial
rostral
rechts
caudal
[mm]


medial
rostral
rechts
caudal
[mm]

Es kann gezeigt werden, daß ausgehend von jeder Stelle des Cortex in wenigen Schritten der größte Teil der injizierten Hemisphäre erreicht wird.

6.6 Kontinuität der Projektionen

Interessant wäre die Beobachtung der 'Dynamik' cortica-ler Projktionen. Darunter soll das Projektionsverhalten benachbarter größerer Gebiete, nämlich der Einstichstellen, verfolgt werden. Betrachtet man eine Reihe von Präparaten mit nebeneinanderliegenden Injektionsgebieten, dann würde man erwarten, daß sich die Flecken mit retrograd gefärbten Neuronen wenigstens stückweise in regelmäßiger Form mitbewegen. Übertritt man mit einer Injektion die Grenze zwischen zwei Arealen, die verschiedene Eingangsprojektionen erhalten, so muß bei einem vollständigen Überschreiten der Grenze innerhalb zweier aufeinanderfolgender Schnitte sich ein mindestens teilweise neues Muster der Ursprunggebiete ergeben. Liegt eine Injektion auf einer solchen Grenze, dann müssen beim Betrachten des Ursprungsmusters bei den entsprechenden benachbarten Injektionen Ursprungsgebiete langsam verschwinden, das heißt kleiner werden und, andere neu erscheinen. Diese Ergebnisse wären zu erwarten, wenn überhaupt keine interindividuelle Variation der Projektionsgebiete vorliegt, ein fester Abbildungsfaktor gilt, und nicht dasselbe Ursprungsgebiet in direkt aneinander grenzende Zielgebiete einstrahlt.
Vergleicht man aber nur die Karten zweier benachbarter Injektionsstellen miteinander, dann ist es oft schwer, korrespondierende Flecken zu finden. Tritt beispielsweise in einem Präparat ein Fleck mit Ursprungszellen zwischen zwei Flecken des Nachbarinjektionsgebietes auf, wird die Deutung der Fortschreitungsrichtung der Projektionen benachbarter Injektionen schon schwer. Fälle dieser Art sind jedoch

relativ häufig.

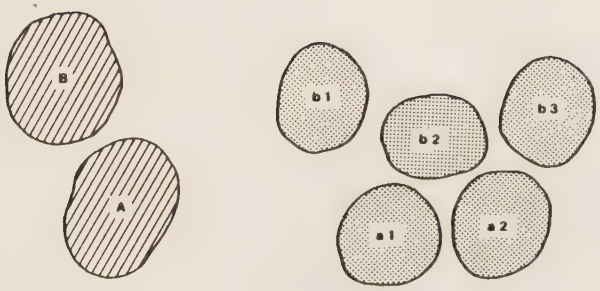


Abb.39: Bei benachbarten Injektionsstellen ist es oft schwer, über korrespondierende Flecken mit retrograd gefärbten Ursprungszellen zu entscheiden. Mit Großbuchstaben sind Injektionsgebiete gekennzeichnet, mit Kleinbuchstaben Zellflecken, die durchnummeriert sind.

6.7. Längenstatistik der Axone

In diesen Zusammenhang gehört auch eine Diskussion der mittleren Entfernung von retrograd gefärbten Ursprungszellen zum Einstichzentrum. Bei der guten 'Erreichbarkeit' verschiedenener Hirnareale von anderen dürfen die axonalen Wege des Fernsystems nicht zu kurz sein. Die Entfernungen innerhalb einer Hemisphäre hatten folgende Verteilung (Abbildung

40), die erhalten wurde, indem in allen Präparaten der Abstand jedes gefundenen Zellkörpers zum Einstichzentrum errechnet wurde (nur für ipslaterale Zellen).

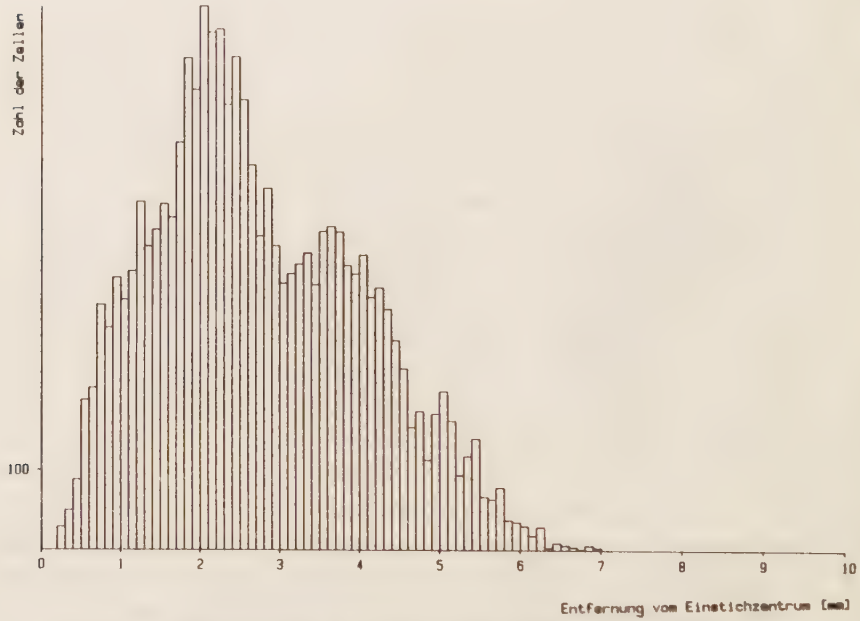


Abb.40: Histogramm der Entfernungen markierter Zellkörper vom jeweiligen Injektionszentrum. Der Nebengipfel bei 3.8 mm könnte vom Anteil der transneuronalen Färbung herrühren.

Zwar müßte für eine ganz exakte Analyse des Diagramms der Beitrag jedes gefärbten Neurons mit der Färbeausbeute des einzelnes Präparats gewichtet werden, jedoch ist dieser Faktor praktisch unzugänglich. Es ist aber nicht anzunehmen, daß sich damit die Verteilung der Entfernungen und somit der Axonlängen des Fernverbindungssytems wesentlich ändert, da alle Axonlängen bei verschiedenen Präparaten auftreten sollten.

Das Histogramm hat den Mittelwert bei 2,84 mm, obwohl auch Entfernungen bis zu etwa 6 mm vorkommen. Offensichtlich sind durch Projektionen verbundene Gebiete eher in der Nähe zueinander zu finden. Da jeweils die Entfernung zum Einstichzentrum aufgetragen ist, und das Injektionsgebiet in der Regel einen Radius von ungefähr einem halben Millimeter hat, sind Messungen ab dieser Distanz zulässig. Von hier hat man einen ungefähr linearen Anstieg bis zum Spitzenwert der Verteilung. Bis dorthin steigt die Zahl der Neurone proportional zum Platzangebot um die Einstichfläche. Das heißt aber, daß das Fernsystem sich quasi direkt an das Nahsystem anschließt und den zur Verfügung stehenden Raum zwar im Einzelfall gerichtet, aber im Mittel gleichmäßig ausfüllt, bis oberhalb einer bestimmten Entfernung (ca. 2,2 mm) ein drastischer Einbruch in diesem Verhalten auftritt. Da, wie wir gesehen haben, nur etwa ein sechstel der Zellen des Mauscortex am Fernsystem teilnehem, muß ein gewaltiger Anteil an Zellen zum Nahsystem gehören, das mit der verwendeten Methode nicht untersuchbar war. Obiges Entfernungshistogramm wäre dann deutlich zweigipflig, und der Übergang vom Nah- zum Fernsystem wäre keinesfalls kontinuierlich.

Nimmt man pro Hemisphäre 10^7 Neurone an, von denen 20% am Fernverbindungsszstem teilnehmen, dann erhält man bei einer Faserdicke von durchschnittlich 1µm (Blinkov,Glezer '68) und einer mittleren Länge von 2,84mm das Volumen von etwa $5mm^3$. Das stimmt gut überein mit anderen Berechnungen von Braitenberg (in press).

7. Weitergehende Implikationen

7.1. Teilverarbeitung in Modalitäten

Das Fasersystem des Mäusecortex müßte wohl zehntausend mal so groß sein, wollte man intracortical ausreichend Axone und Dendriten zur Verfügung stellen, um eine vollständige direkte Verbindung aller Neurone zu erzielen. (es müßten bei gleicher Synapsendichte am Axon zehntausend mal so viele intracorticale Fasern vorhanden sein, um bei der Maus 10^{14} statt 10^{10} Synapsen unterzubringen). Außerdem wäre es nötig, die Verdrahtung nach einem genauen Bauplan durchzuführen, um die Verschaltung topologisch einwandfrei und vollständig durchzuführen. Beides wäre biologisch schwer durchführbar und ineffektiv.

Dieser Mangel an Verschaltungsmöglichkeiten kann durch gezielte Interaktionen zwischen verschiedenen Cortexbereichen oder Modalitäten kompensiert werden. Bei der angenommenen assoziativen Form der Informationsspeicherung muß der Austausch zwischen ihnen prinzipiell genauso organisiert sein wie bei der lokalen Verarbeitung, um nicht in Übertragungsengpässen an Effizienz zu verlieren. Das heißt, daß man es mit nur einer Art der Übertragung mittels axonaler Erregung und gewichteten synaptischen Verbindungen zu tun hat. Die Signale des Fernsystems unterscheiden sich nicht von denen des lokalen Systems. Man kann im lokalen System von einem ´räumlich geordneten Informationsanteil´ sprechen, der in den Nachbarschaftsbeziehungen der Neurone, ihren Verbindungen zueinander und ihrer Einbindung in ihr Zugriffsgebiet liegt. Dieser Teil der Information wird am leichtesten übertragen, wenn man die räumlichen Relationen erhält, indem man die Axone des Fernverbindungssystems parallel verlaufen und geordnet wieder in den Cortex eintreten

läßt. Insbesondere wenn im Cortex dasselbe Koordinatensystem in verschiedenen Sinnesräumen dargestellt werden muß, ist es sinnvoll, die Information räumlich geordnet zwischen beiden zu übertragen. Es wäre günstig, die Aktivität des Ursprungsgebiets so in das Zielgebiet wieder einzustreuen, als ob die neuronalen Prozesse direkt dort geschehen wären, lediglich mit schwächerer Ankoppelung. Die Dichte, mit der das Fernsystem wieder in den Cortex einstrahlt, bestimmt den Grad der Einkopplung, das heißt das Gewicht, mit der das Ursprungsgebiet repräsentiert ist. Wie die Daten zeigen, variiert die Dichte der Zellen, die zu verschiedenen Feldern projizieren, durchaus um den Faktor 50. Die Axone treffen im Abstand von 15 bis 100 µm im Zielgebiet ein.

Das Elegante an einer solchen Cortexverschaltungsidee scheint mir zu sein, daß sie eine Gliederung des Cortex in ein lokales Interaktionssystem, ein Fernverbindungssystem und die Einteilung in verschiedene Modalitäten zuläßt, was den Aufwand, der für Verschaltung getrieben werden müßte, verringern würde, und daß dennoch alle drei Systeme auf demselben mikroskopischen Mechanismus basieren könnten, der seinerseits zu assoziativem Lernen durch Plastizität auf synaptischer Ebene fähig wäre.

7.2. Statistik im Kleinen

Lassen die anatomischen Gegebenheiten der flächentreuen Projektionen Schlüsse auf eine strenge Mikroordnung der Fernverbindungen zu? Flächentreue gilt für alle vorkommenden Größen der Injektionsgebiete, andererseits kommen auch sehr kleine Flecken mit nur wenigen (oft weniger als hundert) Zellen vor, das heißt, daß auch angeschnittene Projektionen im Teilbereich flächentreu bleiben. (Vorausgesetzt Füllungsgrad der Zellen und Zelldichte lassen darauf

schließen, daß es sich deutlich um eine direkt gefärbte Gruppe von Ursprungszellen handelt.) Induktiv kann man daraus folgern, daß für jeden kleinen Satz von benachbarten Neuronen, die lange cortico-corticale Verbindungen herstellen, das Zielgebiet auch genauso klein bleibt. Das hat schließlich wiederum die Konsequenz, daß benachbarte Neurone über cortico-corticale Axone wieder in relativer Nachbarschaft ihre Axonterminale in den Cortex einbringen. Relative Nachbarschaft kann heißen, daß sich die erlaubte Variation im Bereich des oben erwähnten Unschärferadius, bzw. eines so definierten Unschärfescheibchens abspielt. Das bedeutet natürlich auch, daß die nachgeschalteten Zellen noch aus einer großen Auswahl frei gewählt werden können. Bei einem Radius von 100 µm sind das noch ungefähr 12000 Neurone. (Diese Berechnung wird gewonnen, wenn man den mittleren Radius von Dendritenbäumen, das Hineinreichen der Axonterminale in die Mitte der grauen Substanz und die mittlere Zelldichte annimmt, Schüz '84)

Die eben genannten Verhältnisse haben dann aber noch weitere direkte Konsequenzen. Für benachbarte Pyramidenzellen ist der dendritische Einzugsbereich ein wenig verschoben, aber entsprechend der Entfernung zueinander mehr oder weniger stark überlappend. Dasselbe gilt bei relativ strenger Ordnung der Fernprojektionen für die Überlappung im Zielgebiet. Das heißt, daß benachbarte Pyramidenzellen Fernverbindungen zu einer Zelle oder benachbarten im Zielgebiet herstellen können, und sie so über Entfernungen hinweg wiederum eine lokal weitgehend vollständige Verschaltungsmöglichkeit haben. Insofern bestimmt die räumliche Korrelation überlappender Veknüpfungssysteme die Kodierung der Informationsmuster.

Man kann sich vorstellen, daß z.B. im visuellen Cortex starke Überlappung des Einzugsbereichs mehrerer Pyramidenzellen, wie es oben geschildert wurde, ein äußerst gutes

Substrat darstellt, visuelle Aufgaben zu lösen. Nach einem Modell von Braitenberg (Braitenberg,Braitenberg ´79, Braitenberg ´84) über das Entstehen von Richtungsselektivität für ganze rezeptive Felder im visuellen Cortex sind lediglich durch gemeinsame ´Richtungserfahrung´ stark exzitativ verbundene Populationen von Neuronen (cell assemblies) gefordert, die ursprünglich nur durch genügend starke Durchdringung ihrer Faserfortsätze eine hohe Wahrscheinlichkeit hatten, gemeinsame Kontakte auszubilden. Es ist jedoch keine exakte Verschaltung zum Erreichen von Richtungsselektivität nötig.

7.3. Assoziativer Speicher

Der Cortex, als assoziativer Speicher betrachtet, muß einige anatomische Anforderungen über die möglichen Verbindungen zwischen beliebigen Neuronen erfüllen. Eine assoziative Lernmatrix verbindet zumindest potentiell jedes Element mit jedem anderen. Palms (´80,´81a) Berechnungen z.B. zur Speicherkapazität solcher assoziativer oder autoassoziativer Matrizenspeicher beruhen auch auf der theoretischen Möglichkeit, jedes Element mit jedem anderen zu verschalten. Jedoch erhält man schon für Matrizen mit einigen Tausend solcher Elemente Speicher, die herkömmlichen adressierbaren Speichern mit einer redundanten Kodierung in Geschwindigkeit und Kapazität überlegen sind; allerdings machen assoziative Speicher Fehler bei Abruf gespeicherter Muster.
Vollständig verschaltbare Unter- oder Teilmatrizen im Cortex können demnach effektiv und leistungsfähig sein. Zwar hat eine einzelne corticale Pyramidenzelle mit ihren lokalen Axonkollateralen die Möglichkeit, zwischen den Dendriten von 30000 bis 40000 ihrer Nachbarzellen auswählen (Berechnung wie oben, Schüz ´84), sie knüpft aber nur 3 000 bis 5 000 synaptische Kontakte vornehmlich mit verschiedenen Zellen.

Nach Berechnungen von Braitenberg und Palm ist die Wahrscheinlichkeit, daß eine Zelle mit einer beliebigen anderen mehr als ein oder zwei Synapsen bildet, sehr gering. Lokale Interaktionen von Pyramidenzellen liegen also in dem Bereich, in dem die von Palm berechneten assoziativen Matrixspeicher von der Kapazität her gegenüber addressierbaren Speichern überlegen werden. Das ist vor allem dann der Fall, wenn der Speicher fehlertolerant sein soll. Allerdings wäre eine corticale Matrix dann nur etwa zu 5 % mit Kontakten füllbar (ca. 2 000 verschiedene Nachbarzellen werden aus ca. 40 000 ausgewählt), während die Palm´schen Berechnungen von einem Füllungsgrad von etwa 50 % bei geeigneter Wahl der anderen Parameter und optimaler Speicherkapazität ausgehen.

7.4. Lernmatrix-Schreibweise

Man kann hypothetisch das Verschaltungsmuster des Cortex als Matrix darstellen, und ihre Koordinaten nach der Nachbarschaft der Neurone ordnen (was natürlich aus topologischen Gründen streng nicht möglich ist, ein zweidimensionaler Cortex erforderte eine vierdimensionale Matrix und der Cortex als dreidimensionales Gebilde eine sechsdimensionale) (vgl. Palm ´82,S.204). Stellen die Koeffizienten der Matrix gewichtete synaptische Verbindungen dar, so ist sie in der ´Umgebung´ der Hauptdiagonalen ungleich null, und sie hat von Null verschiedene Untermatrizen, entsprechend den cortico-corticalen Fernverbindungen. Könnte man eine solche Matrix aufschreiben, was wegen der Einordnung nach Nachbarschaft und vor allem wegen ihrer Dimensionen (bei der Maus:$10^{10} \times 10^{10}$) nicht möglich ist, dann hätte man in übersichtlicher Form alle potentiellen corticalen Verbindungen dargestellt. Die Ergebnisse dieser Arbeit müßten als stark von Null verschiedene Untermatrizen in die sonst sehr leere

Matrix eingetragen werden. Die Ergebnisse wären dann in sehr übersichtlicher Form dargestellt. Sie wäre geeignet zur mathematischen Weiterbehandlung, z.B. für Fragen der Speicherkapazität.

Ich war jedoch gezwungen, hier die Ergebnisse zunächst in anderer Form zu präsentieren.

8. Schlußbemerkungen

Wie die Karte der arealen Divergenz gezeigt hat, lassen sich in ihr an vielen Stellen recht deutlich cytoarchitektonische Grenzen wiederfinden. Die Cytoarchitektonik spiegelt also auch im Bereich der Fernverbindungen die funktionelle Gliederung des Cortex wider.

Eine genauere Untersuchung der Projektionsgrenzen wäre in diesem Zusammenhang interessant. Mit lokaler und begrenzter angewandten Färbemethoden als in dieser Arbeit könnte es möglich sein, an cytoarchitektonischen und arealen Grenzen Sprünge im Projektionsverhalten quantitativ zu untersuchen, z.B. ob sich alle Projektionsgebiete beim Überschreiten einer solchen Grenze auf einmal ändern.

Eine Analyse der vorhandenen Daten bezüglich der Verteilung markierter Zellen in bestimmten corticalen Schichten wäre eine weitere interessante Untersuchung.

Literaturverzeichnis:

Ahlsen G. (1981): Retrograde labelling of retinogeniculate neurones in the cat by HRP uptake from the diffuse injection zone. Brain Research, 223 (1981) 374-380

Babb R.S., Waters R.S., Asanuma H. (1984): Corticocortical Connections to the Motor Cortex from the Posterior Parietal Lobe (Areas 5a,5b,7) in the Cat Demonstratedby the Retrograde Axonal Transport of Horseradish Peroxidase. Exp.Brain.Res (1984) 54: 476-484

Blinkov S.M., Glezer I.I. (1969) "Das Zentralnervensystem in Zahlen und Tabellen" VEB Gustav Fischer Verlag Jena 1968

Braitenberg V. (1974): Thoughts on the cerebral cortex. J.Theor.Biol 46:421

Braitenberg V. (1977): "On the texture of brains. Neuroanatomy for the cybernetically minded". Springer Verlag 1977, Berlin, Heidelberg, New York

Braitenberg V. (1978a): Cell Assemblies in the Cerebral Cortex. In: Lecture Notes in Biomathematics 21, R. Heim and G. Palm (Eds.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 171-188 (1978)

Braitenberg V. (1978b): Cortical Architectonics: General and Areal. In: Architectonics of the Cerebral Cortex, M.A.B. Brazier and H. Petsche (Eds.), Raven Press, New York, pp. 443-465 (1978)

Braitenberg V., Braitenberg C. (1979): Geometry of Orientation Columns in the Visual Cortex. Biol. Cybernetics 33, 179-186(1979)

Braitenberg V. (1984): An isotropic network which implicitly defines orientation columns. Discussion of an hypothesis. Vorabdruck

Braitenberg V. (1984): Das Raster der neuronalen Elemente in der Sehrinde und seine neurophysiologischen Konsequenzen. in: Pathophysiologie des Sehens, Volker Herzau (Hrsg.), Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1984

Braitenberg V. (in press): Quantitative aspects of cortical anatomy relevant for a theory of cell assemblies. in: Festschrift für Prof. Kogan

Creutzfeldt O.D. (1983): "Cortex Cerebri". Springer-Verlag 1983

Galaburda A.M., Pandya D.N. (1983): The Intrinsic Architectonic and Connectional Organization of the Superior Temporal Region of the Rhesus Monkey. J.Comp.Neur. 221, 169-184

Harrison P.J., Hultborn E., Jankowska E., Katz R. et al. (1984): Labelling of interneurons by retrograde transsynaptic transport of horseradish peroxidase from motoneurons in rats and cats. Neuroscience Letters, 45 (1984) 15-19

Hartenstein V., Innocenti G.M. (1981): The Arborization of Single Callosal Axons in the Mouse Cerebral Cortex. Neuroscience Letters 23, 19-24

Hebb D.O. (1949): "The organization of behaviour". John Wiley, New York

Hedreen J.C. (1981): High Proportion of Callosal-Axon Neurons in Four Areas of Rat Cerebral Cortex. Anat.Rec. 199 (3), 108A-109A

Heimer L., Robards M.J., Eds. (1981): "Neuroanatomical Tract-Tracing Methods". Plenum Press, New York, 1981

Innocenti G.M. (1983): persönliche Kommunikation.

Jacobson S., Trojanowski J.Q. (1974): The cells of origin of the corpus callosum in rat, cat and rhesus monkey. Brain Res., 74 (1974), 149-155

Jones E.G., Powell T.P.S. (1970): An Electron Microscopic Study of the Laminar Distribution and Mode of Termination of Afferent Fibre Pathways in the Somatic Sensory Cortex of the Cat. Phil.Trans.Roy.Soc.B. 257, 45-62

Jones E.G. (1975): Possible determinants of the degree of retrograde neuronal labeling with horseradish peroxidase. Brain Res., 85 (1975), 249-253

Kristensson K., Olsson Y. (1976): Retrograde transport of horseradish peroxidase in transected axons. 3. Entry into injured axons and subsequent localization in perikaryon. Brain Res., 115 (1976), 201-213

La Vail J.H., La Vail M.M. (1972): Retrograde axonal transport in the central nervous system. Science, 176 (1972), 1416-1417

La Vail J.H., La Vail M.M. (1974): The retrograde intra-axonal transport of horseradish peroxidase in the chick visual system: A light and electron microscopic study. J. Comp. Neur., 157 (1974), 303-358

Mesulam M.-M. (1978a): Tetramethyl Benzidine for Horseradish Peroxidase Neurohistochemistry: A Non-Carciogenic Blue Reaction Product with Superior Sensitivity for Visualizing Neural Afferents and Efferents. J. Histochem. Cytochem 26 (1978), 106

Mesulam M.-M. (1978b): A Tetramethyl Benzidine Method for the Light Microscopic Tracing of Neural Connections with Horseradish Peroxidase (HRP) Neurohistochemistry. Prepared for the Society for Neuroscience, Short Course, Saint Louis, November 1978

Mesulam M.-M., et al. (1980): Additional Factors Influencing Sensitivity in the Tetramethyl Benzidine Method for Horseradish Peroxidase. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, Technical Notes, 1980

Nässel D.R., Berriman J.A., Seyan H.S. (1981): Cytochrome c as a high resolution marker of neurons for light and electron microscopy. Brain Research 206 (1981) 439-445

Palm G., Braitenberg V. (1979): Tentative contributions of neuroanatomy to nerve net theories. in: Trappl, Klir, Ricciardi (eds.), Progress in cybernetics and systems research, vol.III, Wiley, New York, p.369

Palm G. (1980): On Associative Memory. Biol. Cybernetics 36, 19-31 (1980)

Palm G. (1981a): On the storage capacity of an associative memory with randomly distributed storage elements. Biol. Cybern. 39:125

Palm G. (1981b): Towards a Theory of Cell Assemblies. Biol. Cybern. 39, 181-194 (1981)

Palm G. (1982): "Neural Assemblies. An alternative approach to artificial intelligence". Springer Verlag 1982, Berlin, Heidelberg, New York

Palm G. (1984): persönliche Kommunikation.

Rosenblatt F. (1962): "Principles of Neurodynamics". Spartan Books, Macmillan, New York

Rosene D.L., Mesulam M.-M. (1978): Fixation variables in horseradish peroxidase neurohistochemistry. I. The effects of fixation time and perfusion procedures upon enzyme activity. J. Histochem. Cytochem. 26 (1978), 28

Schüz A. (1978): Some Facts and Hypotheses Concerning Dendritic Spines and Learning. In: Architectonics of the Cerebral Cortex, M.A.B. Brazier and H. Petsche (Eds.), Raven Press, New York, pp. 129-135 (1978)

Schüz A. (1981a): Pränatale Reifung und postnatale Veränderungen im Cortex des Meerschweinchens: Mikroskopische Auswertung eines natürlichen Deprivationsexperimentes. I. Pränatale Reifung. J. Hirnforsch. 22(1981) 93-111

Schüz A. (1981b): Pränatale Reifung und postnatale Veränderungen im Cortex des Meerschweinchens: Mikroskopische Auswertung eines natürlichen Deprivationsexperimentes. II. Postnatale Veränderungen. J. Hirnforsch. 22(1981) 113-127

Schüz A. (1984): persönliche Kommunikation.

Sidman R.L., Angevine J.B., Taber Pierce E. (1971): University Press, Cambridge, Massachusetts

Steinbuch K. (1961): Die Lernmatrix. Kybernetik 1:36

Uttley A.M. (1955): The probability of neural connexions. Proc.R.Soc.Lon.Ser.B 144:229

Uttley A.M. (1956a): Conditional probability machines and conditioned reflexes. in: Shannon and McCarthy, p.253

Uttley A.M. (1956b): Temporal and spatial patterns in a conditional probability machine. in: Shannon and McCarthy, p.277

Valentino K.L., Jones E.G. (1982): The early formation of the corpus callosum: a light and electron microscopic study in foetal and neonatal rats. Journal of Neurocytology 11, 583-609 (1982)

Vanegas H., Holländer H., Distel H. (1978): Early Stages of Uptake and Transport of Horseradish Peroxidase by Cortical Structures, and Its Use for the Study of Local Nrons and Their Processes. The Journal of Comparative Neurology, Vol.177, No.2, January 15, 1978

Vaughan D.W. (1983): Thalamic and Callosal Connections of the Rat Auditory Cortex. Brain Research, 260 (1983) 181-189, Research Reports

Yorke C.H., Caviness V.S. (1975): Interhemispheric Neocortical Connections of the Corpus Callosum in the Normal Mouse: A Study Based on Anterograde and Retrograde Methods. J.Comp.Neur., 164, 233-246

Akademische Lehrer waren:

Prof.Dr.R. Apfelbach, Prof.Dr.M. Baumann, Prof.Dr.V. Braitenberg, Dr.G. Dähn, Dr.H. Dahmen, Prof.Dr.M. Dal Cin, Prof.Dr.F. Gönnenwein, Prof.Dr.W. Güttinger, Prof.Dr.K. Kirschfeld, Prof.Dr.H. Krüger, Prof.Dr.F. Lenz, Prof.Dr. Mitter, Prof.Dr.G. Möllenstedt, Prof.Dr.H. Netzel, Prof.Dr. Pfaffelhuber, Prof.Dr.K. Schmidt-Koenig, Prof.Dr.M. Schramm, Prof.Dr.J. Strähle, Prof.Dr.H. Stumpf, Prof.Dr.S. Temesváry, Prof.Dr.D. Varjú, Prof.Dr.K. Wildermuth.

Tübingen, 20.8.84

Lebenslauf

Als einziges Kind der Eheleute Leopold Greilich und Anna geborene Eber, wurde ich, Horst Jürgen Greilich am 11.April 1955 in Crailsheim geboren. Ich wuchs in Langenburg, Kreis Schwäbisch Hall auf, wo ich zwischen dem April 1962 und März 1966 die Volksschule besuchte. Bis zum Mai 1974 war ich Schüler des Gymnasiums in Gerabronn, wo ich am 28.5.74 das Abitur machte. Seit Oktober 1974 bin ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen immatrikuliert, zunächst im Studiengang Physik Diplom. Der Schwerpunkt des Studiums lag bald bei Informationswissenschaften und Automatentheorie. Zwischen 1977 und 1981 war ich auf diesen Gebieten Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Informationsverarbeitung der Universität Tübingen. Seit April 1978 bin ich im Studiengang Biologie Diplom an der Universität Tübingen immatrikuliert. Der Schwerpunkt des Interesses und der Studien war Biokybernetik. Im Mai 1980 erhielt ich das Diplom in Physik. Die Diplomarbeit, die unter der Leitung von Prof.Dr. M. Dal Cin am Institut für Informationverarbeitung der Universität Tübingen angefertigt wurde, hatte den Titel: "Dynamisches Testverhalten und Leistungsbestimmung selbstdiagnostizierender Systeme". Ebenfalls im Mai 1980 erhielt ich das Vordiplom in Biologie an der Universität Tübingen. Bis zum Sommer 1981 setzte ich das Studium der Biologie mit dem Hauptaspekt Biokybernetik fort, und ich arbeitete an Projekten über fehlertolerante Computersysteme mit; in der Arbeitsgruppe von Prof. Dal Cin. Seit September 1981 arbeite ich am Max-Planck-Institut für Biologische Kybernetik in Tübingen unter der leitung von Prof. Braitenberg an meiner Promotion über die quantitative Analyse der cortico-corticalen Fernverbindungen bei der Maus. Diese Arbeit ist nun abgeschlossen.